

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

JOYCE SILVA DOS SANTOS

ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS TRATADOS COM CREME DE
ÓLEO DE ROSA MOSQUETA

BRASÍLIA - DF

2016

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

JOYCE SILVA DOS SANTOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS TRATADOS COM CREME DE
ÓLEO DE ROSA MOSQUETA**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade de Brasília. Área de Concentração: Cuidado, Políticas e Práticas em Saúde e Enfermagem.
Linha de pesquisa: Processo de Cuidar em Saúde e em Enfermagem.

Orientador: Prof^a Dr^a Ivone Kamada

Coorientador: Prof^a Dr^a Livia Cristina Lira de Sá Barreto

BRASÍLIA – DF

2016

JOYCE SILVA DOS SANTOS

**ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE
CICATRIZAÇÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS TRATADOS COM CREME DE
ÓLEO DE ROSA MOSQUETA**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em
Enfermagem pelo Programa de Pós-Graduação
em Enfermagem da Universidade de Brasília.
Área de Concentração: Cuidado, Políticas e
Práticas em Saúde e Enfermagem.
Linha de pesquisa: Processo de Cuidar em
Saúde e em Enfermagem.

APROVADA EM: ____/____/____.

Doutora: Ivone Kamada
(Presidente)

Doutora: Ana Lúcia da Silva
(Professor)

Doutor: João Batista de Sousa
(Professor)

Doutora: Ana Beatriz Duarte Vieira
(Suplente)

Dedico este trabalho...

a Deus, que abriu cada uma das portas e janelas pelas quais este estudo pode ser levado avante; a minha família e amigos por seu apoio incondicional; a meu amado e melhor amigo com quem tenho compartilhado meus sonhos e que está sempre perto me incentivando a ir mais longe; a cada pessoa que de alguma forma, já sentiu a dor de uma ferida...

AGRADECIMENTOS

Este é um trabalho de múltiplos esforços, de conhecimentos diversos e combinados. Obrigada, Prof^ª. Dr^a Ivone Kamada por ter acreditado nessa proposta e me aceitado como orientanda mesmo quando a tarefa parecia impossível frente aos recursos disponíveis. Obrigada Prof^ª. Dr^a Livia Cristina Lira de Sá Barreto por ter acolhido esta aluna que ainda não estava bem consciente da longa tarefa que teria pela frente. De uma forma tão desprendida você se doou para este estudo e trouxe novas perspectivas.

Prof^ª. Dr^a Izabel Cristina Rodrigues da Silva, a você, meus agradecimentos por sua disponibilidade e auxílio em cada fase desse trabalho. Sua paixão pela pesquisa e a forma como você se faz acessível àqueles que buscam por conhecimento me inspiraram! Aos veterinários do Biotério Central da Faculdade de Medicina Rafael Rocha de Andrade e Ana Luiza Sarkis Vieira, obrigada pelas lições de respeito e cuidado com os animais, que contribuíram com suas vidas para o desenvolvimento desse estudo.

Também agradeço a cada um dos técnicos do Biotério Central da Faculdade de Medicina que com paciência garantiam o bem estar dos animais durante o andamento do estudo.

Às alunas de Graduação em Enfermagem e futuras colegas de profissão Íris Caroline, Jéssica Alves Rodrigues, Kelly Adriane Bomfim de Castro, Laura Beatriz Sousa de Jesus Martelleti, Patrícia Nunes Barbosa Soares, meu muito obrigada pelas infindas horas dedicadas em procedimentos anestésicos, cirúrgicos e coletas de sangue e fragmentos. Este trabalho, de alguma forma, também lhes pertence, pois sem a dedicação e o esforço de vocês, nada teria sido feito. Obrigada também aos técnicos do Laboratório de Patologia Elisabete Joaquim dos Santos e Bráulio, à técnica do Laboratório de Histologia Maria da Glória da Silva, e ao farmacêutico responsável pelo Laboratório de Tecnologias da Faculdade de Ceilândia Antônio Leonardo de Freitas Garcia pelo apoio e pelas vezes que tiveram que parar seus afazeres para me orientar nos experimentos. Em especial, agradeço à Tercia Maríia Mendes Louza de Castro, que com alegria e disposição abriu as portas do Laboratório de Patologia e não hesitou em compartilhar comigo seus conhecimentos.

Aos professores doutores Eliana Fortes Gris, Fabiana Pirani Carneiro e Daniel Oliveira Freire agradeço por terem dedicado seu tempo para as análises que compõe cada parte deste trabalho. O conhecimento de cada um de vocês possibilitou a montagem deste quebra-cabeça.

Obrigada à Eliane Caixeta, farmacêutica da Farmácia Universitária da Universidade Federal de Goiás, que me recebeu de forma tão atenciosa e foi essencial para a aquisição dos insumos usados nesse estudo.

Um agradecimento especial à mestranda Natane Castelo Branco Duarte que me doou vários de seus dias em procedimentos de laboratório além da paciência de ser também minha professora.

Agradeço às (o) alunas (o) de graduação Amanda Almeida, Andressa Guimarães e Igor Mota por tomarem alguns dias do tribulado tempo de vocês para me conduzirem na jornada de desvendar os caminhos das Ciências Farmacêuticas.

À minha querida amiga Fabiana Carpi, minha irmã Tayse Santos e a meu pai João Batista dos Santos, obrigada por terem sido minha salvação quando parecia que eu estava sozinha. Vocês também se debruçaram sobre animais, coletaram fragmentos, puncionaram, e fizeram coisas que jamais fariam em outras situações. Vocês são minha âncora!

À minha querida mãe Ruth Silva dos Santos, obrigada por ser minha fortaleza e por ter me ensinado a permanecer em pé frente às tempestades... porque a vida é um ir e vir de tempestades.

Obrigada aos meus amigos que me incentivaram, apoiaram, acalmaram e me distraíram nos momentos em que precisei.

A meu companheiro e amigo Marcos Antônio Pereira, obrigada por me incentivar, dar a mão quando preciso, ou simplesmente estar ao meu lado nos bons e nos maus momentos.

Obrigada querida família por ser meu porto seguro quando a tensão parecia maior do que a tarefa a que me dediquei nesses dois anos.

E obrigada, meu Deus, porque a cada passo, vi Tua providência e direção nesse caminho, me fazendo ir mais além do que podia imaginar.

"Que eu saiba agradecer o pouco, para que possa merecer o muito".

Anônimo

A todos vocês,
Muito Obrigada!

“no calor da fornalha separa-se, para sempre, a
escória da prata e do ouro...”

(Ellen White)

RESUMO

Feridas crônicas atingem cerca de 15% da população mundial trazendo consequências sociais, econômicas e psicológicas a seus portadores. Na tentativa de reduzir esse índice novas tecnologias e o uso de produtos naturais anti-inflamatórios tem sido abordados por diversos pesquisadores como recursos mais convenientes para a prevenção e tratamento de feridas crônicas. O óleo de Rosa Mosqueta (RM) possui uma vasta gama de substâncias naturais com capacidade anti-inflamatórias e provável propriedade cicatrizante como o betacaroteno e os ácidos graxos oleico, linoleico, linolênico e ursólico. Diante do exposto, o presente estudo teve por objetivo aliar a terapia clínica à tecnologia farmacêutica, incluindo o óleo RM em um produto elegante, estável e com efetividade na cicatrização de feridas crônicas. Para tanto, o trabalho foi estruturado em três etapas, sendo a primeira delas a busca de literatura científica que justificasse o desenvolvimento de um produto farmacêutico contendo óleo de RM; a segunda consistiu no desenvolvimento do produto, emulsão a base de óleo de RM, assim com a execução de seu estudo de estabilidade acelerada, finalizando com a terceira etapa através da avaliação da eficácia *in vivo* da emulsão de óleo de RM em comparação ao óleo de RM puro. Foram elaboradas emulsões óleo em água (O/A) com óleo de RM em quatro diferentes concentrações (15%, 25%, 30%, 50%). A emulsão mais concentrada e com melhor característica estética (30% de óleo de RM – E30), juntamente com emulsão de óleo mineral 30% (OM30), amostra de óleo de RM puro (S100) e solução a 30% de óleo RM (S30) foram submetidas ao estudo de estabilidade acelerada em câmara climática (40°C e 75% UR) por 90 dias. Os parâmetros físico-químicos (cor, odor, consistência, cremeação, espalhabilidade e pH), químicos – (capacidade antioxidante e dosagem de betacaroteno) e microbiológicos das emulsões e soluções oleosas previamente citadas foram analisados nos dias 1, 7, 15, 30, 60, e 90 após elaboração e envase. Em adição, as emulsões (E30 e OM30) e soluções recém-elaboradas (S30 e S 100), assim como gel de colágeno a 50% (controle positivo - C50) e solução fisiológica 0,9% (controle negativo - SF) foram utilizados em estudo *in vivo* com 144 ratos *Wistar* adultos aleatorizados em 6 grupos de tratamento. Os animais foram anestesiados e submetidos ao procedimento cirúrgico para retirada de fragmento da região dorsal até exposição da fáscia muscular. As lesões foram tratadas diariamente utilizando cada produto de acordo com o grupo de análise e avaliadas quanto à presença de fibrina, necrose ou granulação em leito e taxa de retração. Nos dias 7, 14 e 21 de cicatrização, 8 animais de cada grupo foram eutanasiados para coleta dos fragmentos da lesão usados na confecção de lâmina histológica. As lâminas foram coradas por hematoxilina eosina para avaliação de infiltrado inflamatório, neoangiogênese e reepitelização e pela coloração picrosírius para avaliação da deposição e organização de colágeno. A análise estatística foi realizada em programa SPSS 20.0, considerando-se valores significantes $p \leq 0,05$. A emulsão E30 elaborada mostrou características organolépticas, espalhabilidade e de pH adequadas à aplicação tópica, apresentando estabilidade físico-química pelo período de 30 dias nas condições de armazenamento desse estudo. Obteve capacidade antioxidativa superior ao óleo puro, indicando que a formulação protegeu os componentes químicos do óleo. Os testes *in vivo* mostrou que a emulsão E30 estimulou o influxo de neutrófilos nos primeiros 14 dias de cicatrização e reduziu o número de monócitos no leito da lesão aos 21 dias comparado ao grupo SF. Também mostrou menor formação de tecido necrótico e fibrinoso em leito comparado aos demais grupos.

Palavras-chave: *Rosa aff rubiginosa*, óleo de Rosa Mosqueta, creme de Rosa Mosqueta, cicatrização de feridas.

ABSTRACT

Chronic wounds affect about 15% of the world population bringing social, economic and psychological consequences to their patients. In an attempt to reduce that, new technologies index and the use of natural anti-inflammatory products have been approached by several researchers to due more convenient resources for the prevention and treatment of chronic wounds. Rosehip oil (RM) has a wide range of natural substances with anti-inflammatory capacity and probable healing properties such as beta-carotene and oleic, linoleic, linolenic and ursolic fatty acids. In view of the above, the present study aimed to combine clinical therapy with pharmaceutical technology, including RM oil in an elegant, stable product to effective healing of chronic wounds. For this, the work was structured in three stages, the first one being the research of scientific literature that justified the development of a pharmaceutical product containing RM oil; the second consisted of the development of the product, emulsion based on RM oil, as well the execution of its accelerated stability study, finishing with the third stage by evaluating the *in vivo* efficacy of the RM oil emulsion compared to the pure RM oil. The emulsions oil in water (O/W) were prepared with RM at four different concentrations (15%, 25%, 30%, 50%). The most concentrated emulsion with the best aesthetic characteristics (30% of RM-E30 oil), together with 30% mineral oil emulsion (OM30), pure RM oil sample (S100) and 30% RM oil solution (S30) were submitted to the accelerated Stability study in climatic chamber (40°C and 75% RH) for 90 days. The physicochemical parameters (color, odor, consistency, scaling and pH), chemical (antioxidant capacity and dosage of betacarotene) and microbiological parameters of the emulsions and oily solutions were analyzed on days 1, 7, 15, 30, 60, and 90 after elaboration and packaging. In addition, emulsions (E30 and OM30) and freshly prepared solutions (S30 and S100), as well as 50% collagen gel (positive control - C50) and 0.9% physiological solution (negative control - SF) were used in vivo study with 144 adult Wistar rats randomized into 6 treatment groups. The animals were anesthetized and submitted to a surgical procedure to remove the fragment from the dorsal region until exposure of the muscular fascia. Lesions were treated daily using each product according to the analysis group and evaluated for the presence of fibrin, necrosis or bed granulation and retraction rate. On days 7, 14 and 21 of healing, 8 animals from each group were euthanized to collect the lesion fragments used in the histological slide preparation. The slides were stained by hematoxylin eosin for the evaluation of inflammatory infiltrate, neoangiogenesis and reepithelialization and by picrosirius staining to evaluate the deposition and organization of collagen. The statistical analysis was performed in SPSS 20.0 program, considering significant values $p \leq 0.05$. The elaborated E30 emulsion showed organoleptic, scatterability and pH characteristics suitable for topical application, presenting physical-chemical stability for the period of 30 days under the storage conditions of that study. It obtained antioxidative capacity superior to pure oil, indicating that the formulation protected the chemical components of the oil. *In vivo* tests showed that the E30 emulsion stimulated the influx of neutrophils within the first 14 days of healing and reduced the number of monocytes in the lesion bed at 21 days compared to the SF group. It also showed lower formation of necrotic and fibrinous tissue in wound bed compared to the other groups.

Key Words: *Rosa aff rubiginosa*, Rose hip oil, Rose hip cream, wound healing.

RESUMEN

Las heridas crónicas afectan a alrededor del 15% del mundo trayendo consecuencias social, económica y cambios psicológicos a sus portadores. En un intento de reducir esta tasa, nuevas tecnologías y la utilización de productos naturales antiinflamatorios ha sido abordado por varios investigadores como recursos más convenientes para la prevención y el tratamiento de heridas crónicas. El aceite de rosa mosqueta tiene una amplia gama de sustancias naturales capaces de acción antiinflamatoria y probable cicatrización de heridas como beta-caroteno y ácidos grasos oleico, linoleico, linolénico y ursólico. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue combinar la terapia clínica con la tecnología farmacéutica, incluyendo el aceite de rosa mosqueta en un producto elegante, estable y con eficacia en la curación de heridas crónicas. Por lo tanto, los trabajos se han estructurado en tres partes, la primera de las cuales la búsqueda de la literatura científica que justifica el desarrollo de un producto farmacéutico que contiene aceite de RM, la segunda consistió en el desarrollo de la emulsión de aceite de base RM así como la realización de su estudio de estabilidad acelerada, terminando con la tercera etapa a través de evaluación de la eficacia *in vivo* de la emulsión de aceite de la RM en comparación con aceite puro de RM. Se han preparado las emulsiones aceite en agua (O/W) con aceite de RM en cuatro diferentes concentraciones (15%, 25%, 30%, 50%). La emulsión más concentrada y con mejor función estética (30% de aceite de RM - E30), junto con la emulsión de aceite mineral 30% (OM30), las muestras de aceite puro de RM (S100) y 30% de aceite RM (S30) fueron sometidos al estudio de estabilidad acelerada en cámara climática (40 ° C y 75% HR) durante 90 días. Los parámetros físicos y químicos (color, olor, textura, formación de crema, extensibilidad y pH), químicos - (la capacidad antioxidante y la dosis de beta-caroteno) y microbiológico de las emulsiones y soluciones grasas, mencionadas anteriormente, fueron examinados en los días 1, 7, 15, 30, 60 y 90 después de su acondicionamiento y envasado. Además, las emulsiones (S30 y OM30) y soluciones recién desarrolladas (S30 y S 100), así como el gel de colágeno 50% (control positivo - C50) y 0,9% de solución salina (control negativo - SF) fueron utilizados en el estudio *in vivo* con 144 ratas Wistar adultas asignados al azar en seis grupos de tratamiento. Los animales fueron anestesiados y sometidos al procedimiento quirúrgico para la extirpación de un fragmento de la región dorsal hasta la exposición de la fascia de músculo. Las lesiones fueron tratadas diariamente con cada producto de acuerdo con el grupo de análisis y evaluados para determinar la presencia de fibrina, necrosis o granulosis en la cama y tasa de contracción. En los días 7, 14 y 21 de curación, 8 animales en cada grupo fueron sacrificados para la recolección de los fragmentos lesión utilizados en la fabricación de portaobjetos histológico. Los portaobjetos fueron teñidos con hematoxilina eosina para evaluación de infiltrado inflamatorio, la neoangiogénesis y epitelización y tinte picrosirius para evaluación de deposiciones y organización del colágeno. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 20.0, considerando valores significativos $p \leq 0,05$. La emulsión E30 desarrollada mostró características organolépticas, extensibilidad y pH adecuados para aplicación tópica, apresentando estabilidad física y química durante un período de 30 días en las condiciones de almacenamiento de este estudio. Tiene capacidad antioxidativa superior el aceite puro, indicando que la redacción ha protegido a los componentes químicos del aceite. Los ensayos *in vivo* mostraron que la emulsión E30 ha estimulado la afluencia de neutrófilos en los

primeros 14 días de curación y redujo el número de monocitos en el lecho de la herida a los 21 días comparado con el grupo SF. También mostró menor formación de tejido necrótico y fibrina en el lecho en comparación con otros grupos.

Palabras clave: *Rosa aff rubiginosa*, ceite de Rosa Mosqueta, crema de Rosa Mosqueta, cicatrización de heridas .

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Figura esquemática da pele.	2
Figura 2 Fluxograma ilustrativo do processo de cicatrização.	3
Figura 3 Representação esquemática do influxo celular no tecido lesionado ao longo do tempo de cicatrização. Fonte: Mendonça e Coutinho-Neto, 2009.	9
Figura 4 Triângulo de avaliação de feridas segundo o Wounds International, 2015. Adaptado: Dowsett et al, 2015.	12
Figura 5 Esquema visual para avaliação de feridas segundo o Wounds International, 2015. Adaptado: Dowsett et al, 2015.	13
Figura 6 Esquematização para obtenção das publicações presentes na revisão integrativa. Brasília, 2015.	24
Figura 7 Procedimentos para avaliação do índice de espalhabilidade. A – placa de vidro posicionada sobre papel milimetrado; B – placa molde com orifício central; C – preenchimento do orifício central com a amostra da emulsão; D – visualização do volume de amostra submetido à espalhabilidade após retirada da placa molde; E e F – posicionamento das placas de vidro para avaliação da espalhabilidade, medindo-se os diâmetros horizontal e vertical da área ocupada pelo creme.	34
Figura 8 Demonstrativo da avaliação de cor, odor e consistência das emulsões durante os dias de análise. Brasília, 2016.	39
Figura 8 Demonstrativo da avaliação de cor, odor e consistência das emulsões durante os dias de análise. Brasília, 2016.	39
Figura 9 Evolução do índice de espalhabilidade e espalhabilidade relativa (%) das emulsões avaliadas ao longo dos dias de armazenamento. Brasília, 2016. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli. * diferença entre amostras A e B; # Diferenças entre amostras A e C.	40
Figura 10 A – Correlação de Pearson para perda de massa e espalhabilidade; B - Esquema de perda de massa das amostras ao longo dos dias de armazenamento. Brasília, 2016. Teste Anova, $p=0,777$	40
Figura 11 Diferenças de pH entre as amostras e ao longo dos dias de armazenamento. Brasília, 2016. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli. * diferença entre amostras A e B; # Diferenças entre amostras A e C.	42
Figura 12 Correlação entre perda de massa (g) e pH longo dos dias de análise. Correlação de Pearson. Brasília, 2016.	43
Figura 13 Correlação entre pH e espalhabilidade das amostras ao longo dos dias de análise. Correlação de Pearson. Brasília, 2016.	43

Figura 14 Capacidade antioxidativa <i>in vitro</i> nas emulsões e amostras de óleo ao longo dos dias de armazenamento. B - Comparação (%) capacidade antioxidativa das emulsões e do óleo a 30% comparado ao óleo puro, Brasília, 2016. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli. $p < 0,001$ entre cremes e óleos.	44
Figura 15 Correlação entre pH e capacidade antioxidante <i>in vitro</i> (μM Trolox) das emulsões A (1), B (2) e C (3) ao longo dos dias de análise. $p < 0,001$, Correlação de Pearson. Brasília, 2016.	44
Figura 16 Correlação de Pearson entre espalhabilidade (mm^2) e capacidade antioxidante <i>in vitro</i> (mM Trolox) nas amostras estudadas ao longo dos dias. Brasília, 2016.	45
Figura 17 A - Concentração de Betacaroteno nas amostras de óleo ao longo dos dias de armazenamento. B - Comparação da dosagem de betacaroteno no óleo a 30% comparado ao óleo puro, Brasília, 2016. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli, $p < 0,001$	45
Figura 18 Apresentação de culturas em placas de petri das amostras analisadas ao longo dos dias de armazenamento, Brasília, 2016. Legenda: E30-A: emulsão 30%, triplicata A; E30-B: emulsão 30%, triplicata B; E30-C: emulsão 30%, triplicata C; S100 – óleo de Rosa Mosqueta 100%; S30 – Solução de óleo de Rosa Mosqueta 30%.	46
Figura 19 Procedimentos para confecção da ferida cirúrgica: A - Tricotomia da área de confecção da ferida; B - Demarcação da lesão; C- Confecção da ferida.	53
Figura 20 Esquema de avaliação morfológica do leito da lesão por tipo de tecido presente. Legenda: A - Tecido necrótico; B - Tecido fibrinoso; C - Tecido de granulação; D - Tecido de epiteliação.	55
Figura 21 Evolução do processo de cicatrização por grupo de tratamento e tempo de eutanásia. Brasília, 2016.	56
Figura 22 Evolução das lesões durante o processo de cicatrização por tipo de tecido observado em leito de acordo com o grupo de tratamento. Brasília, 2016. Legenda: A – Tecido fibrinoso; B – Tecido necrótico; C – Tecido de granulação; D – Tecido de epiteliação. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli, $p < 0,05$	58
Figura 23 Proporção de ocorrência de lesões periferida entre os grupos de tratamento ao longo do tempo de cicatrização. Brasília, 2016.	59
Figura 24 Mediana de tempo de cicatrização por grupo de tratamento. Brasília, 2016. Teste Kruskal-Wallis, $p = 0,134$	59
Figura 25 Taxa de retração das lesões por grupo de tratamento nos dias 7, 14 e 21 de cicatrização. Brasília, 2016. Teste de Kruskal Wallis, $p = 0,190$	60
Figura 26 Características histológicas da lesões por grupo de tratamento nos dias experimentais 7, 14 e 21, Brasília, 2016. Teste Anova Two-Way com pós-teste de Benjamini, Krieger e Yekutieli, $p < 0,05$	61

Figura 27 Avaliação histológica qualitativa das lesões quanto à presença de epitelização total, microabscesso, crosta, úlcera, colônias e corpo estranho. Teste Exato de Fisher, $*p<0,001$.

Brasília, 2016..... 63

Figura 28 Avaliação estética das lesões por tipo de tratamento. Brasília, 2016..... 64

LISTA DE QUADROS E GRÁFICOS

Quadro 1 Relação de células envolvidas no processo de cicatrização e suas respectivas funções.....	6
Quadro 2 Composição (%) das formulações desenvolvidas à base de óleo de Rosa Mosqueta. Brasília, 2015.....	30
Quadro 3 Características organolépticas das emulsões ao longo dos dias de armazenamento. Brasília, 2016.....	41
Quadro 4 Descrição dos parâmetros físico-químicos do óleo de Rosa Mosqueta segundo cromatografia gasosa.	51
Quadro 5 Composição do óleo de Rosa Mosqueta segundo análise em cromatografia gasosa*.	51
Gáfico 1 Determinação da curva-padrão de trolox. Brasília, 2016.	36
Gáfico 2 Correlação das concentrações do padrão de betacaroteno e área do pico, equação da reta e correlação de Pearson. Brasília, 2016.	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Relação de descritores e número total de trabalhos resgatados por base de dados pesquisada. Brasília, 2015	23
Tabela 2 Trabalhos consultados na revisão integrativa sobre óleo de Rosa mosqueta. Brasília, 2015.	25
Tabela 3 Avaliação dos trabalhos consultados por nível de evidência e qualidade metodológica para estudos clínicos. Brasília, 2015.....	26
Tabela 4 NMP de UFC por triplicatas da emulsão elaborada após 60 dias de armazenamento. Brasília, 2016.....	46
Tabela 6 Mediana dos valores referentes aos itens avaliados por grupo de tratamento e respectivo p valor. Brasília, 2016.	62

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS - ácido 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico

AGE - Ácidos Graxos Essenciais

AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BVS - Biblioteca Virtual em Saúde

C50 – Gel de colágeno 50%

Cf - Conforme

COMUT - Programa de Comutação Bibliográfica

DPO - Dia pós operatório

E15 - Emulsão com 15% óleo de Rosa Mosqueta

E25 - Emulsão com 25% de óleo de Rosa Mosqueta

E30 - Emulsão com 30% de óleo de Rosa Mosqueta

E50 - Emulsão com 50% de óleo de Rosa Mosqueta

EGF - fator de crescimento epidérmico

FGF - fator de crescimento derivado dos fibroblastos

HPLC - cromatografia líquida de alta eficiência

IL - Interleucina

Lilacs - Literatura Latino-Americana de Ciências da Saúde

Medline - Medical Literature Analysis and Retrieval System on Line

MMP - Metaloproteinases

O/A - emulsão óleo em água

OMS - Organização Mundial da Saúde

PDGF - Fator de crescimento derivado de plaquetas

PG - prostaglandinas

pH - potencial hidrogeniônico

PubMed - National Library of Medicine

RM - Rosa Mosqueta

rpm - rotação por minuto

S100 - Óleo Puro de Rosa Mosqueta

S30 - Solução com 30% de óleo de Rosa Mosqueta

Scielo - Scientific Eletronic Library Online

TEAC - Capacidade Antioxidante Total Equivalente ao Trolox

TGF- β - fator de crescimento de transformação beta

TNF- α - fator de necrose tumoral alfa

UFC – Unidades Formadoras de Colônias

UR - Umidade relativa

LISTA DE SÍMBOLOS

μL - Microlitro

μm - micrômetro

μM - Micromolar

A - absorbância

Ci - Índice de cremeação

cm - Centímetro

d - Diâmetro

E - Espalhabilidade

g - grama

h - Horas

M - Massa

mcg - micrograma

mg - Miligrama

mL - Mililitro

nm - Nanômetro

nM - Nanomol

°C - Graus Celsius

p/p - Porcentagem em massa

v - Volume

v/v - porcentagem em volume

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	2
2.1 O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO	2
2.1.1 Hemostasia e Inflamação	4
2.1.2 Fase Proliferativa.....	5
2.1.3 Remodelamento.....	8
2.2 REGENERAÇÃO ANORMAL E AVALIAÇÃO DE FERIDAS	10
2.2.1 Desequilíbrio no processo inflamatório	10
2.2.3 Desequilíbrio no modelamento da ferida	11
3. AVALIAÇÃO DE FERIDAS	12
2.3 ROSA MOSQUETA: CARACTERIZAÇÃO, ASPECTOS BIOQUÍMICOS E USOS CLÍNICOS	13
3. JUSTIFICATIVA	18
4. OBJETIVOS	21
Objetivo Geral	21
Objetivos específicos	21
5. DESENVOLVIMENTO.....	22
5.1 A ROSA MOSQUETA COMO POTENCIAL AGENTE CICATRIZANTE: REVISÃO INTEGRATIVA	22
Método	22
Resultados e Discussão	23
5.2 DESENVOLVIMENTO E ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADA DE EMULSÃO À BASE DE ÓLEO DE ROSA MOSQUETA.....	30
Materiais e Métodos	30
Composição das formulações	30
Preparo das soluções oleosas	31
Preparo das emulsões	31
Seleção da emulsão para estudo de estabilidade acelerada	31
Análise organoléptica das formulações	31
Estudo de estabilidade acelerada	32
Acondicionamento dos produtos	32

Teste de perda de massa.....	32
Teste organoléptico	32
Teste de centrifugação	33
Teste de pH	33
Teste de espalhabilidade	33
Teste microbiológico	34
Avaliação da atividade antioxidante	35
Avaliação do teor de betacaroteno	37
.....	37
Análise estatística	38
Resultados e Discussão	38
5.3 ESTUDO MORFOLÓGICO E MORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO EM RATOS WISTAR ADULTOS TRATADOS COM CREME DE ÓLEO DE ROSA MOSQUETA.....	51
Método	51
Aquisição dos materiais.....	51
Procedimentos do Estudo	52
Confecção da ferida cutânea	53
Cuidados pós-operatórios	53
Eutanásia	54
Análise Macroscópica	54
Análise Histológica.....	55
Análise Estatística.....	55
Resultados e Discussão	55
Avaliação Morfométrica	56
Análise Morfológica.....	60
6. CONCLUSÃO.....	69
REFERÊNCIA	71

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), 80% da população de países em desenvolvimento utiliza-se de práticas integrativas em saúde na atenção primária e, desse total, 85% fazem uso de plantas medicinais. No Brasil não existem dados exatos do número de pessoas que utilizam as plantas, mas, seguramente, essa tendência mundial também é seguida, desde o consumo da planta fresca e preparações extemporâneas, até o fitoterápico (Carvalho et al, 2007).

Uma planta que tem despertado o interesse da comunidade científica desde a década de 70 é a *Rosa aff rubiginosa*, também conhecida como Rosa Mosqueta, Rose Hip ou Rosa Canina, devido ao seu extenso uso popular para diversas afecções. As pesquisas com essa planta abrangem caracterização do perfil genético e bioquímico e, mais recentemente, estudos de ação de extratos e óleo fixo da planta tanto *in vitro* quanto *in vivo* (Wenzig et, 2008; Winther et al, 2013; Molezzi et al, 2002; Willich et al , 2010; Saaby et al, 2011; Fromm, 2012; Patel, 2013).

Em 2009 publicamos uma revisão de literatura sobre a Rosa Mosqueta destacando seu potencial clínico. Foi constatado que essa planta tem sido estudada por diversos pesquisadores em todos os continentes, embora estudos sobre a atividade cicatricial do óleo fixo se mostrem ainda raros e com seu uso a partir da droga *in natura*, sem nenhum processamento (Santos, Vieira e Kamada, 2009). Essa temática nos despertou o interesse em investigar o potencial do óleo de Rosa Mosqueta a partir de um produto farmacêutico seguro, estável e eficaz para o tratamento de feridas.

O trabalho que se segue está constituído de três etapas independentes, porém complementares. Primeiramente, apresentamos uma revisão integrativa sobre o óleo da Rosa Mosqueta no processo de cicatrização, mostrando ao leitor as evidências disponíveis na literatura científica. A essa primeira etapa, segue-se o desenvolvimento de emulsão óleo em água tendo como princípio ativo o óleo de Rosa Mosqueta e os resultados de estudo de estabilidade acelerada do produto. Por fim, essa emulsão foi utilizada em estudo de cicatrização *in vivo* para avaliação de sua atividade cicatrizante.

Essas três etapas, embora estejam interligadas ao objetivo geral deste trabalho, possuem estruturas independentes quanto a metodologia e resultados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O PROCESSO DE CICATRIZAÇÃO

A pele é o maior órgão do corpo humano responsável pela proteção, imunidade e termorregulação do organismo. É constituída por duas camadas primárias (epiderme e derme) e uma camada de gordura subcutânea (Irion, 2012) (*cf.* Fig. 1).

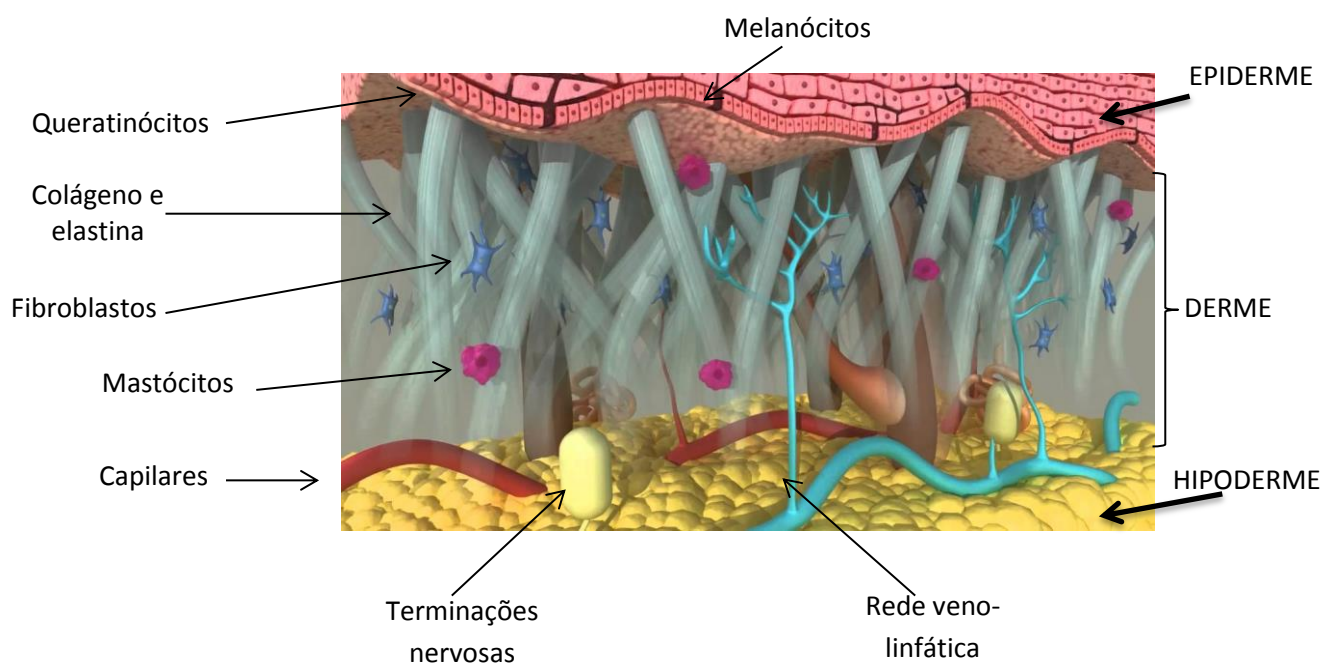


Figura 1 Figura esquemática da pele. Fonte: NovidermPortugal.

Sua capacidade regenerativa abrange uma complexa rede celular e bioquímica comum a todas as lesões e cuja intensidade e duração irão depender da extensão do dano celular (Young & MaCnaught, 2011). Esses eventos podem ser promovidos ou perturbados por uma intervenção externa.

O termo lesão é definido como a ruptura da estrutura anatômica normal da pele e, principalmente, de sua função (Diegelman, 1997). A reparação tecidual é um mecanismo de sobrevivência no qual o tecido danificado é degradado e substituído gradualmente por células e tecido novo até que a integridade da pele seja restaurada. A reparação tecidual ocorre tanto pela regeneração espontânea da epiderme como pela reparação do tecido conectivo, o que dependerá da extensão e da profundidade da lesão, se o trauma é restrito a partes moles, ou causado cirurgicamente. Em injúrias menores envolvendo a epiderme em que a camada basal

não sofre dano, células regenerativas migram do tecido profundo para o mais superficial, finalizando a epitelização no período de 7 a 10 dias. No entanto, nas lesões em que ocorre perda de tecido dérmico e anexos (glândulas sebáceas, glândulas sudoríparas e folículos pilosos) a reepitelização não ocorre até que toda a área da lesão seja preenchida por tecido conectivo (Beldon, 2010).

O processo de cicatrização abrange uma sequência fixa de eventos que tornam-se mais evidentes quando ocorre lesão da espessura total da pele (epiderme e derme), e do tecido subcutâneo. A partir da agressão tecidual, é desencadeada uma perfeita e coordenada cascata de eventos celulares, bioquímicos e moleculares que interagem para que ocorra regeneração tecidual (Roubelakis, 2014). O processo de cicatrização é dividido em quatro fases: hemostasia, inflamação, proliferação e remodelamento (*cf.* Fig. 2). Ao longo dessas fases, é ativada uma sequência ordenada e superposta de quatro processos descritos a seguir (Irion, 2012).

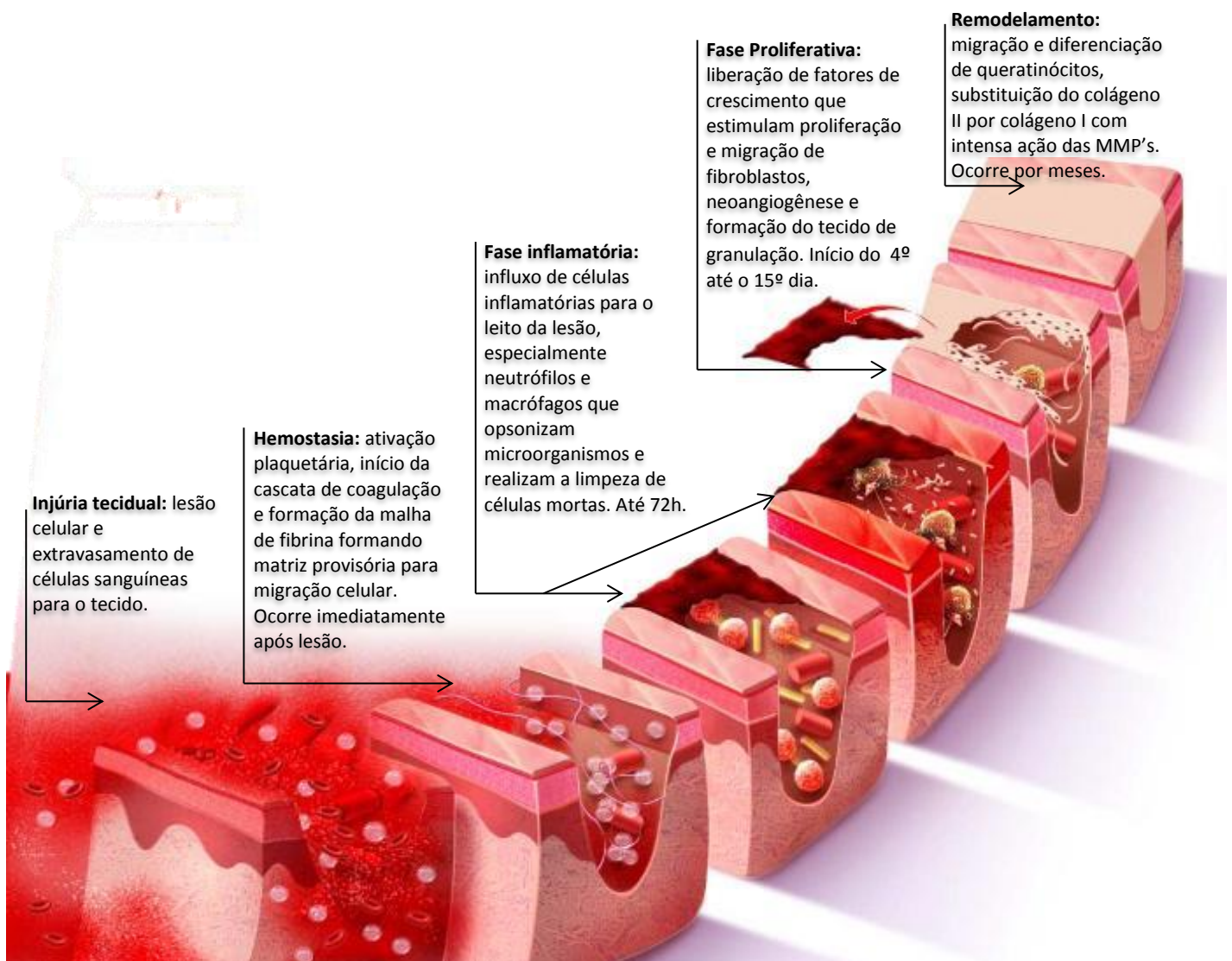


Figura 2 Fluxograma ilustrativo do processo de cicatrização. Fonte: Ebah

2.1.1 Hemostasia e Inflamação

Assim que ocorre a lesão tecidual, componentes sanguíneos entram em contato com o colágeno e outros elementos da matriz extracelular do epitélio lesionado, o que provoca rápida ativação plaquetária e inicia a cascata de coagulação. Esse processo resulta em formação de moléculas de fibrina insolúvel responsáveis pela hemostasia dos capilares lesionados e liberação de grânulos presentes nas plaquetas contendo fator de crescimento plaquetário, fator de crescimento de transformação beta (TGF- β), fator de crescimento derivado dos fibroblastos (FGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), prostaglandinas e tromboxanas (Roubelakis et al, 2014). Esse agrupamento de plaquetas, proteínas da matriz extracelular e do sistema de coagulação forma uma matriz provisória que serve de alicerce para a migração celular, tanto a partir da circulação como das regiões adjacentes (Balbino, 2005).

Tais substâncias no tecido lesionado, juntamente com a ativação do sistema complemento, iniciam o processo inflamatório com recrutamento de neutrófilos e macrófagos. Os neutrófilos são as primeiras células de defesa a migrarem para o tecido nas 24h iniciais da ocorrência da ferida e podem permanecer no local por horas ou dias até que o tecido esteja livre de bactérias e células mortas (Campos, 2007). Tanto neutrófilos quanto macrófagos aumentam a permeabilidade vascular provocando extravasamento de plasma e proteínas, e o edema associados à inflamação. São responsáveis pela opsonização de bactérias, apresentação aos leucócitos recrutados e remoção de células mortas. Sendo células de defesa de ação inespecífica, o recrutamento de neutrófilos também pode resultar em dano tecidual devido à liberação de enzimas (elastases e collagenases) e radicais livres (Irion, 2012).

O aparecimento de neutrófilos fagocitados por macrófagos marcam o fim da fase inflamatória, que dura cerca de 72h. Entretanto, fatores externos podem manter o influxo de neutrófilos por mais tempo, aumentando a lesão tecidual, como contaminação, corpo estranho ou tratamento agressivo da ferida (Godoy & Prado, 2005). A inflamação em feridas agudas dura em geral três a sete dias, portanto, um período mais longo de inflamação é preditivo de regeneração lenta.

Iniciando o processo de transição para a próxima fase, os macrófagos começam a invadir a área da lesão do segundo ao quinto dia e assume um papel crítico na indução do processo de reparo. Esta é a célula mais eficiente na eliminação de microorganismos pela fagocitose, inclusive de neutrófilos que perderam a função, além de atuar como elo entre o sistema imune inato e o adaptativo (Balbino, 2005). Os macrófagos também são necessários

tanto para a iniciação quanto para a propagação do tecido de granulação por meio da liberação de substâncias como prostaglandinas (PG) e leucotrienos, quimioatrativos para a reparação celular, fatores de crescimento, mediadores peptídicos e enzimas relacionadas ao reparo (colagenases e matriz de metaloproteases). A transição da fase inflamatória para a fase proliferativa depende da efetividade dos macrófagos na retirada dos fragmentos de uma área e na liberação de fatores de crescimento (Irion, 2012; Balbino, 2005).

2.1.2 Fase Proliferativa

Esta fase tem início ao redor do 4º dia após a lesão, se estende aproximadamente até o término da segunda semana e é constituída por quatro etapas fundamentais: epitelização, angiogênese, formação de tecido de granulação e deposição de colágeno. A epitelização tem início já nas primeiras 24h, com células epiteliais migrando da periferia para o centro do tecido lesionado a fim de restabelecer as camadas epiteliais, embora não possa ser observável até o 3ª dia pós lesão (Campos, 2007, Irion, 2012). A presença local de macrófagos derivados de monócitos e a produção e liberação de mediadores químicos produzidos por eles intensificam a migração e ativação de fibroblastos (Balbino, 2005).

A formação de tecido de granulação pelos fibroblastos, macrófagos, vasos neoformados e células endoteliais se inicia em três a cinco dias, concomitante à reepitelização (Irion, 2012). A formação desse tecido depende do processo de fibroplasia, no qual ocorre o acúmulo de macrófagos que estimulam o crescimento interno de fibroblastos que, por sua vez, irão produzir colágeno local e substituir a matriz extracelular por um tecido conjuntivo mais forte e elástico (Balbino, 2005).

Os fibroblastos dos tecidos vizinhos migram para a ferida e são ativados a sair de seu estado de quiescência pelo PDGF. Esse movimento é direcionado pela orientação da matriz provisória, um fenômeno conhecido como 'guia de contato', facilitado quando a composição da matriz extracelular é mais rica em gel de fibronectina do que colágeno (McDougall, 2006) e orientado pelo gradiente de substâncias quimioatraentes. Em seguida, TGF - β é liberado e estimula os fibroblastos a produzirem colágeno tipo I e a se diferenciarem em miofibroblastos, promovendo a contração da ferida (Campos, 2007). Fator importante nesse processo é a formação concomitante de novos vasos sanguíneos, influenciados tanto por fatores de crescimento, especialmente o fator de necrose tumoral alfa (TNF - α) quanto pela baixa tensão de oxigênio no centro da ferida, que irão garantir suporte nutricional ao novo tecido (Williamson & Harding 2004; Balbino, 2005).

Quadro 1 Relação de células envolvidas no processo de cicatrização e suas respectivas funções.

Tipo celular	Tempo de ação	Função
Plaquetas	Segundos	Formação de trombo
		Ativação da cascata de coagulação
		Liberação de mediadores inflamatórios (PDGF, TGF- β , FGF, EGF, histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas, tromboxana).
Neutrófilos	Pico em 24h	Fagocitose de bactérias
		Desbridamento
		Liberação de enzimas proteolíticas
		Produção de radicais de oxigênio Aumento da permeabilidade vascular
Queratinócitos	Em 8h	Liberação de mediadores inflamatórios
		Estímulo à migração de queratinócitos periféricos
		Neovascularização
Linfócitos	72-120h	Regula a fase proliferativa
Fibroblastos	120h	Deposição de colágeno
		Síntese do tecido de granulação
		Síntese de colágeno
		Produção dos componentes da matriz extracelular
		Liberação de proteases
		Liberação de mediadores inflamatórios

Fonte adaptada: Young and McNaught, 2011.

O tecido de granulação é composto por um aglomerado de células e vasos neoformados sustentados por uma matriz frouxa de fibronectina, ácido hialurônico e colágeno tipos I e III.

Esse é um tecido edematoso, com muitos espaços vazios devido à imaturidade dos vasos que são exudativos e sangram facilmente. A neovascularização é o que confere a coloração róseo-avermelhado brilhante do tecido de granulação saudável (Williamson & Harding 2004; Irion, 2012).

Ao mesmo tempo, os fibroblastos e macrófagos na região produzem fibronectina, que irá auxiliar na fixação das próprias células. Outra substância produzida em grande quantidade neste segundo estágio é o ácido hialurônico, um polissacarídeo glicosaminoglicano não sulfatado com facilidade de se ligar à água, que auxilia na resistência do tecido à compressão. Tais substâncias na matriz propiciam um microambiente eficiente para a movimentação das células necessárias nessa etapa. À medida que a maturação da ferida avança, a concentração de ácido hialurônico diminui e a síntese de proteoglicanos ou glicosaminoglicanos sulfatados aumenta, o que favorece a fixação e imobilidade das células e a consequente diferenciação para fenótipos maduros (Balbino, 2005).

Na etapa final da fase proliferativa, os vasos neoformados assumem características de capilares e os fibroblastos começam a desenvolver atividades de síntese protéica, passando a secretar grandes quantidades de colágeno. Este, aos poucos, substitui os proteoglicanos e a fibronectina até se tornar o principal componente da cicatriz em formação. Nessa fase, a tensão de oxigênio deve aumentar no leito da ferida, promovendo a hidroxilação dos resíduos de prolina e lisina nas cadeias peptídicas do colágeno montadas no citoplasma dos fibroblastos. A hidroxiprolina produzida pelos fibroblastos agrega-se em uma tríplice hélice formando pró-colágeno que é liberado para o espaço extracelular onde serão processadas e transformadas em tropocolágeno. Essas moléculas se agregam, formando uma rede inicial de fibras de colágeno desorganizada, proporcionando resistência limitada à tração da ferida (Irion, 2012; Balbino, 2005).

É nessa fase de fixação dos fibroblastos e produção de colágeno que a contração da ferida alcança sua eficiência máxima. Isso ocorre devido à mudança de fenótipo dos fibroblastos das margens da ferida para miofibroblastos, que começam a exibir características funcionais semelhantes às células do músculo liso. Essas células são encontradas alinhadas ao redor de depósitos da nova matriz extracelular, fazendo uniões célula a célula e gerando força de tensão. O ressecamento da crosta superficial da ferida também auxilia no processo de contração, pois a desidratação leva à redução do tamanho da lesão e arrasta o tecido a ela aderido (Balbino, 2005).

A liberação de IL-1 e do fator de crescimento epidérmico estimula a formação de novas células nas bordas da ferida, que aderem ao tecido de granulação abaixo e migram por sobre

as células por epibolia, processo descrito como "pular carniça", até chegar à margem da ferida que avança sobre o tecido de granulação. Ao mesmo tempo, a perda da inibição de contato no leito da lesão estimula a alteração fenotípica de queratinócitos das bordas livres, folículos pilosos e glândulas sudoríparas, que se proliferam e perdem seus desmossomos e os filamentos internos de queratina, migrando para o centro da lesão. Esses queratinócitos desenvolvem filamentos de actina e mobilidade, perdem a polaridade apical/basal e estendem pseudópodes na direção da ferida, onde produzirão uma matriz provisória de fibrina, fibronectina e colágeno tipo V caso a membrana basal esteja danificada (Irion, 2012). Esse processo de migração de queratinócitos somente se inicia quando o tecido de granulação alcança o nível da epiderme, oferecendo um substrato adequado para a migração celular. As células voltam ao fenótipo normal quando a ferida é coberta, e os queratinócitos são novamente contidos pelo restabelecimento dos desmossomos (Balbino, 2005).

Ao final desta etapa, o leito da ferida está totalmente preenchido por tecido de granulação, a circulação é restabelecida pela neovascularização e a rede linfática está passando por regeneração. A aparência de cicatriz começa a se estabelecer pelo acúmulo de massa fibrosa (Balbino, 2005).

2.1.3 Remodelamento

O processo de remodelamento leva meses ou até anos para se completar (Beldon, 2010). A matriz extracelular sofre modificações contínuas até que esteja estável. Sendo assim, a matriz extracelular é diferente na periferia e no centro de uma ferida. A pele reepitelizada tem uma força tênsil de 15% da pele normal, alcançando aproximadamente 80% quando o remodelamento está completo (Irion, 2012; Beldon, 2010).

É nessa fase que a deposição de colágeno ocorre de maneira mais organizada, substituindo o colágeno produzido inicialmente, que é mais fino (colágeno tipo III), por um colágeno mais espesso (Tipo I) presente na pele normal com orientação paralela à pele, organizado ao longo das linhas de tensão. Essas mudanças resultam em aumento da força tênsil da ferida. Finalmente, influenciados por citocinas e fatores de crescimento, os fibroblastos migrantes organizam as fibras de colágenos produzidas até alcançar a estrutura dérmica conhecida (Campos, 2007; McDougall, 2006).

O processo de reorganização matricial da cicatriz ocorre por meio de collagenases secretadas por fibroblastos e leucócitos, que promovem a lise da matriz antiga e sucessiva reorganização das fibras de colágeno. Os fibroblastos produzem colágeno a uma taxa

constante e degradam o colágeno antigo a uma taxa proporcional à quantidade de colágeno já presente (McDougall, 2006), rearranjando as fibras de colágeno de acordo com a organização das fibras do tecido conjuntivo adjacente. A cicatrização tem sucesso quando há equilíbrio entre a síntese da nova matriz e a lise da matriz antiga (Campos, 2007).

Os eosinófilos aparecem nas últimas fases da reparação e acredita-se estarem relacionados à produção de fatores de crescimento. Após o fechamento da lesão, os linfócitos constituem as células de defesa mais abundantes em feridas humanas, que além de exercerem ação imune, produzem fatores de crescimento. Ao final da etapa de remodelamento, os anexos da pele, como folículos pilosos e glândulas sofrem regeneração limitada e a cicatriz permanece pálida por regeneração deficiente de melanócitos. Além disso, a cicatriz é hipovascularizada devido ao desaparecimento dos neocapilares (Balbino, 2005).

A figura 3 abaixo mostra o influxo de células durante o processo de reparação tecidual de acordo com as fases e dias de cicatrização.

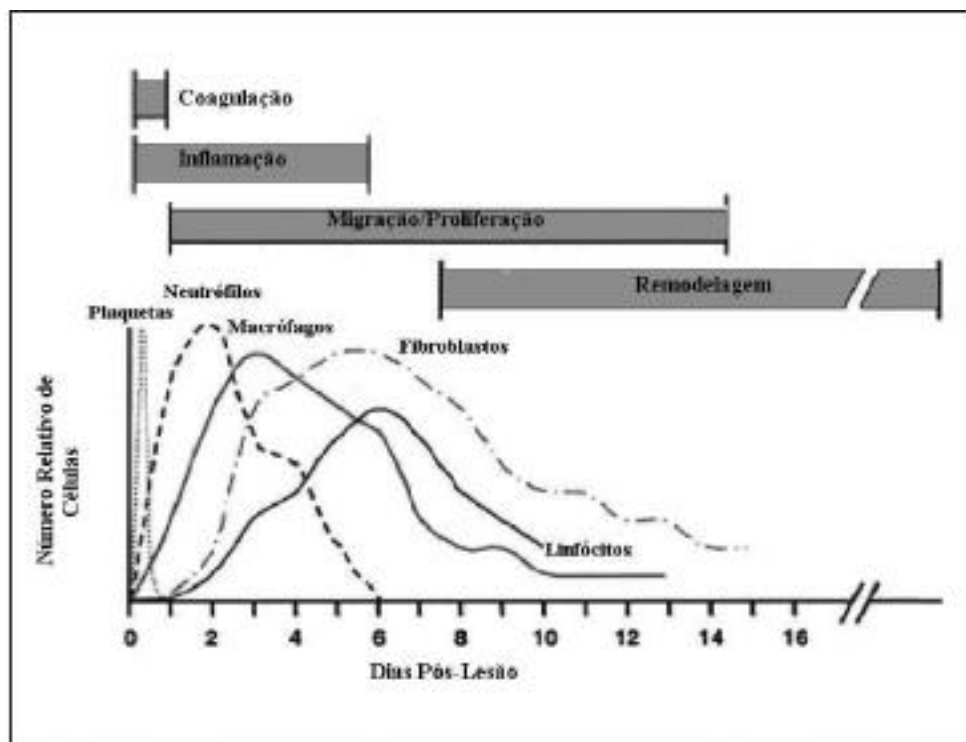


Figura 3 Representação esquemática do influxo celular no tecido lesionado ao longo do tempo de cicatrização. Fonte: Mendonça e Coutinho-Neto, 2009.

2.2 REGENERAÇÃO ANORMAL E AVALIAÇÃO DE FERIDAS

A expressão regeneração anormal de feridas descreve a inexistência de evolução cronológica adequada da regeneração de uma ferida (Irion, 2012). A regeneração anormal pode ser desencadeada por: fatores sistêmicos - desnutrição, desidratação, doenças crônicas (diabetes, hipertensão, AIDS), tabagismo, etilismo, doenças imunológicas, envelhecimento, fatores genéticos; fatores locais - redução de oxigenação local, infecção, corpo estranho, edema, compressão, atrito; fatores iatrogênicos - medicamentos, cirurgias, intervenções inadequadas (Young & McNaught, 2011; Irion, 2012).

No geral, independente do fator, o processo de cicatrização pode sofrer falhas nas fases de inflamação, reepitelização, formação do tecido de granulação ou no remodelamento, acarretando atrasos no processo de cicatrização ou maior dano celular.

2.2.1 Desequilíbrio no processo inflamatório

Em feridas onde a fase inflamatória se prolonga além tempo esperado, seja por fatores externos ou sistêmicos, o processo de cicatrização não consegue evoluir para a fase proliferativa responsável pela formação do tecido estrutural de vasos neoformados, malha de fibroblastos e tecido conjuntivo. Mais e mais células inflamatórias continuam a chegar ao sítio lesionado com consequente degranulação e liberação de enzimas e radicais livres. As células de defesa, especialmente neutrófilos, mantêm a fagocitose de células e produtos locais acarretando maior dano tecidual. Como consequência, percebe-se uma ferida pouco oxigenada, apresentando tecido necrótico ou fibrinoso, drenando secreção de moderada a máxima. Esse líquido inflamatório, por sua vez, ao entrar em contato com as células sadias inibe o crescimento de células endoteliais, queratinócitos e fibroblastos. Caracteriza-se, ainda, por ser um líquido rico em metaloproteinases da matriz (MMP) e níveis baixos de fatores de crescimento. Além disso, a umidade excessiva provoca maceração da pele adjacente e consequente lesão tecidual (Irion, 2012).

Por outro lado, deficiência no processo inflamatório também irá resultar em atraso na cicatrização por incapacidade em preparar adequadamente o local da ferida e iniciar o processo de regeneração. A falta do processo inflamatório resulta em deficiência de fatores de crescimento e de circulação sanguínea. Dessa forma, células responsáveis pela limpeza local e remoção de material necrótico não conseguem chegar ao local lesionado, o que resulta em uma barreira física contra a angiogênese necessária ao reparo tecidual. Essa lesão se

apresentará, de forma geral, ressecada e recoberta por escara, em geral rígida e negra, com pouca ou nenhuma secreção, dificultando a proliferação e migração celular (Irion, 2012).

2.2.2 Desequilíbrio entre granulação e reepitelização

Em circunstâncias normais, o tecido de granulação preenche a ferida a partir da base e das bordas da lesão. Quando o tecido de granulação alcança a altura da epiderme circunvizinha, o tecido de epiteliação começa a migrar através do tecido de granulação. Em alguns, casos, no entanto, a epiteliação pode ocorrer mais rapidamente que a granulação, de forma que a ferida fechada exibe uma depressão nos casos mais leves. Quando esse descompasso é mais intenso, pode ocorrer o fechamento da lesão sem o completo preenchimento da ferida, fazendo com que bactérias e tecido desvitalizado fiquem encarcerados no tecido subcutâneo com probabilidade de ocorrência de infecção ou lojas (Irion, 2012).

Já a hipergranulação ocorre quando há crescimento excessivo no leito da ferida, fazendo com que a base da mesma exceda a altura da pele ao seu redor, o que resulta em uma cicatriz pouco estética (Irion, 2012).

Os fibroblastos são os responsáveis pela produção de colágeno para a formação do tecido conectivo na reparação tecidual. Em tecido epitelial normal, o colágeno é responsável por conferir força, integridade e estrutura. Entretanto, se quantidades excessivas de colágeno são depositadas no local da lesão, ocorre perda ou alteração da estrutura do tecido cicatricial, processo denominado fibrose. Por outro lado, se quantidades insuficientes de colágeno são produzidas, não há tecido suficiente para deposição no sítio da ferida e a cicatrização dificilmente se completará (Diegelman, 1997).

2.2.3 Desequilíbrio no modelamento da ferida

A transição do tecido de granulação para a epiteliação e formação da cicatriz envolve reorganização e maturação das fibras de colágeno. Na cicatrização normal, o processo de síntese e quebra de colágeno pode durar até três meses após a injúria pela ação de metaloproteinases da matriz produzidas pelos macrófagos, células endoteliais e fibroblastos. Essas enzimas proteolíticas quebram o colágeno produzido pelos fibroblastos em um delicado processo que exige equilíbrio entre síntese e degradação de colágeno até completa restauração tecidual. A aparência da cicatriz sofre modificação por até dois anos após a injúria pela

manutenção desse delicado equilíbrio, o que é denominado modelamento (Williamson & Harding, 2004).

Alterações ou desequilíbrio nesse processo resultam em cicatriz de aspecto grosseiro como quelóide ou cicatriz hipertrófica. No caso do quelóide, há crescimento do tecido cicatricial para além das bordas da lesão. Essa cicatriz permanece altamente irrigada, o que lhe confere sua coloração escurecida e está relacionada a fatores genéticos (Young & McNaught, 2004). Já a cicatriz hipertrófica é caracterizada por elevação acima do nível da pele circundante, mas se restringem à borda da lesão e com o passar do tempo, diminuem em altura, tamanho e vascularidade, tornando-se planas, brancas e avasculares em alguns meses (Irion, 2011).

3. AVALIAÇÃO DE FERIDAS

A avaliação do aspecto da lesão pode dar subsídios para a identificação de possíveis distúrbios no processo de cicatrização a fim de estabelecer o manejo adequado ou possibilitar estudos sobre a evolução do processo de reparo tecidual (Lazarus, 1994).

A avaliação morfométrica da ferida consiste em observação física e monitoramento do aspecto da lesão (Dowsett, 2015). Cinco aspectos críticos devem ser observados: coloração, odor, secreção, extensão e pele circunvizinha (Irion, 2012, Saar & Lima, 2010). O Wounds International (2015) estabelece um triângulo de avaliação que envolve o leito da ferida, bordas e pele circunvizinha (*cf.* Fig. 4).

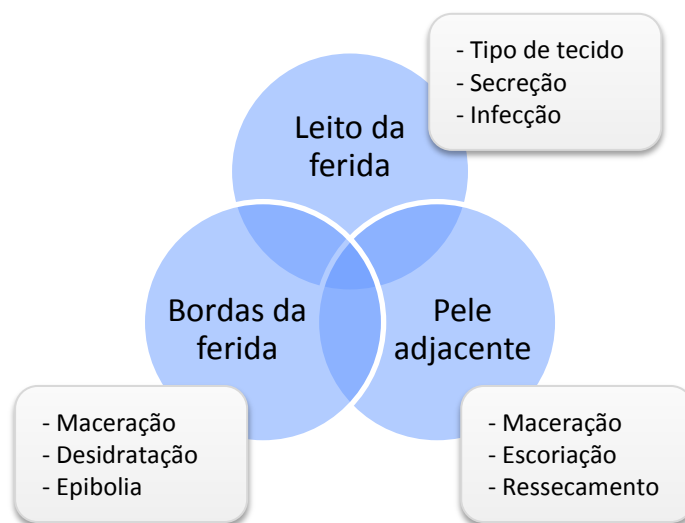


Figura 4 Triângulo de avaliação de feridas segundo o Wounds International, 2015. Adaptado: Dowsett et al, 2015.

A avaliação do leito da lesão envolve a descrição da coloração, dos tipos de tecidos encontrados (*cf.* Fig. 5) bem como sua porcentagem e a presença e tipo de exsudato (Lazarus, 1994).



Figura 5 Esquema visual para avaliação de feridas segundo o Wounds International, 2015. Adaptado: Dowsett et al, 2015.

Outro importante critério para avaliação da evolução de feridas corresponde à taxa de retração, calculada a partir do dimensionamento da área da lesão, que pode ser realizado por meio de *softwares* que utilizam imagens digitais (Reis et al, 2012), régua milimetrada ou paquímetros digitais (Oliveira et al, 2005). O cálculo da área de lesão pode ser obtido traçando-se duas linhas perpendiculares tomando-se como referência os pontos mais extensos do comprimento e da largura da ferida (Saar & Lima, 2010). Esse método mostra-se eficaz principalmente em feridas relativamente regulares (Dealey, 2008).

2.3 ROSA MOSQUETA: CARACTERIZAÇÃO, ASPECTOS BIOQUÍMICOS E USOS CLÍNICOS

A família das Rosáceas compreende mais de 3000 espécies e 100 gêneros utilizadas nas mais diversas indústrias: perfumaria, cosmética e farmacêutica (Pareja, 1996; Valdebenito, 2003). Nos últimos anos, possivelmente uma das plantas mais estudadas tem sido a Rosa Mosqueta (*R. aff. Rubiginosa*; *R. eglentaria*; *R. Canina*) devido às múltiplas aplicações da flor, do fruto e da semente, assim como seus inúmeros derivados, cujos efeitos farmacológicos têm sido comprovados por investigadores de diversos países.

Rosa Mosqueta (*Rosa aff rubiginosa*) é uma espécie de rosa selvagem que se desenvolve bem em terrenos degradados, em regiões de temperaturas e umidade amenas (Valdebenito, 2003). É originária da Europa Central, Polônia, Balcãs, Hungria, Rússia e Cáucaso, sendo também encontrada em abundância na África e Índia (Valdebenito, 2003). Na América do Sul, foi introduzida ainda no período colonial, tornando-se bastante abundante no sul do Chile onde é muito comum na zona compreendida entre a décima primeira e a décima segunda região, especialmente na província de Concepción. No Peru, cresce nas regiões do Cuzco, Arequipa e Apurímac, compreendidos entre a sétima e a décima primeira região. Também é abundante no sul da Argentina e nos Estados do Missouri, Nebraska e Wyoming nos Estados Unidos (Pareja, 1996; Valdebenito, 2003).

Na Antigüidade, a raiz da Rosa Mosqueta era usada para eliminar cálculos renais. Já os romanos empregavam a flor da planta para acabar com a embriaguez e na preparação de perfumes (Plantaservas, 2006). Na medicina tradicional, as pétalas das flores têm sido utilizadas desde a época precolombiana em infusões para o tratamento de processos inflamatórios da garganta, assaduras e infecções (Pareja, 1996).

Os frutos dessa planta apresentam uma alta concentração de ácido ascórbico ou vitamina C (Kazankaya et al, 2005; Dogan & Kazankaya, 2006), motivo pelo qual o chá das cascas dos frutos é empregado no tratamento e prevenção de resfriados (Valdebenito, 2003;). O fruto ainda contém pigmentos carotenoides (Andersson, 2011; Cunha, 2015) dos quais se pode citar o licopeno, beta-caroteno, alfa-caroteno e a alfa-criptoxantina, que possui caráter de pró-vitamina A, favorecedora de inúmeras funções fisiológicas. É rico em ferro, cálcio, fósforo e flavonóides, o que justifica sua importância nutricional (Pareja, Valdebenito, PlantasMed). A ação antioxidante e antiinflamatória dos flavonóides já tem sido bastante investigado e comprovado (Kanashiro et al, 2004).

Revisões de literatura (Patel, 2013; Orhan e Hartevioglu, 2013) apontam evidências de que o extrato da Rosa Mosqueta tem propriedades anti-inflamatórias, cardioprotetora, imunomodulatória (Saaby, 2011), protetora gástrica (Latanzzio, 2011), hipoglicemiante (Andersson et al, 2011), antimicrobiana (Chrubasik et al, 2008), antidiarreica (Orhan, 2013), além da possibilidade de aplicações cutâneas. Essas propriedades estariam relacionadas aos compostos fenólicos, especialmente proantocianidinas.

Tumbas e sua equipe (2012) verificaram, *in vitro*, atividade contra radicais livres de extrato puro do fruto de Rosa Mosqueta. Conferem esse achado à presença de compostos fenólicos, flavonoides e vitamina C, capazes de reduzir a atividade de radicais hidroxil e

ânion superóxido. Em outro estudo (2012), os mesmos autores verificaram com esse extrato, inibição de crescimento celular de células cancerígenas também *in vitro*.

Daels-Rakotoarison *et al* (2002) e Larsen *et al* (2003) isolaram um galactopeptídeo do extrato de sementes de Rosa Mosqueta capaz de inibir, *in vitro*, a quimiotaxia de neutrófilos de sangue periférico humano, enquanto Kharazmi & Winther (2005) demonstraram, também, uma redução de parâmetros inflamatórios *in vivo*. Em ensaio não clínico randomizado, Hakansson (2006) e sua equipe demonstraram menor inflamação e colonização do tecido colônico injuriado por isquemia e reperfusão em ratos, com o uso de um preparado de Rosa Mosqueta, reduzindo a peroxidação lipídica nesses tecidos.

Por seu potencial imunomodulador, um extrato de Rosa Mosqueta tem sido empregado no tratamento de pacientes com osteoartrite (Orhan & Hartevioglu, 2013), melhorando os parâmetros de dores articulares e reduzindo o uso de medicações analgésicas (Chrubasik, Duke e Chrubasik, 2006; Winter *et al*, 2013). Estudos também observaram redução de parâmetros inflamatórios nesses pacientes (Warholm *et al*, 2003; Willich *et al*, 2010; Winter *et al*, 2013).

Da semente é possível extrair um óleo concentrado rico em ácidos graxos essenciais insaturados (Szentmihálvi *et al*, 2002) em concentração de cerca de 80%, que correspondem ao ácido linoleico (entre 43 e 49%), ácido alfa-linolênico (entre 32 e 38%) e ácido oleico (entre 14 e 16%) (Eggers *et al*, 2000; Machmudah *et al*, 2008; Roman *et al*, 2013). Quantidades menores de ácidos graxos saturados também estão presentes: ácido palmítico (entre 3 e 5%), ácido palmitoléico (entre 0,1 e 5%), ácido esteárico (entre 1 e 2%), outros ácidos graxos como láurico, mirístico, araquidônico, gadoléico e behênico (entre 0 e 1%); ácidos ativos: ácido transretinoico ou tretinoína natural (entre 0,01 e 0,1%) (Valladares *et al*, 1993; Fromm *et al*, 2012). Além destes, uma significativa porcentagem de fosfolipídios pode ser encontrada, numa quantidade de 20 – 30mg/L de extrato de óleo (Salminen *et al*, 2005, Kazankaya *et al*, 2005).

Os ácidos graxos essenciais estão ligados à manutenção da integridade da pele e da estrutura das membranas celulares e à síntese de compostos biologicamente ativos (p. ex., prostaglandinas e leucotrienos). São importantes em muitos processos fisiológicos e bioquímicos do corpo humano relacionados à regeneração dos tecidos e ao crescimento celular (Thielemann, Orrego e Sandoval, 1993). Têm ainda uma função estrutural, formando parte dos fosfolipídios das membranas celulares dos tecidos do organismo, sendo os precursores de prostaglandinas e leucotrienos a partir da síntese do ácido araquidônico (Funk *et al*, 2006; Pareja, 1996). Já os fosfolipídios intervêm, entre outros, no processo ativo de

fosforilação, na mitose e organização celular e nos intercâmbios iônicos (Pareja, 1996; Godoy & Prado, 2005). Entre outros benefícios à saúde atribuídos aos ácidos graxos, destacam-se: anticarcinogênese, antiaterosclerose, inibição de radicais livres, alteração na composição e no metabolismo do tecido adiposo, imunomodulação, atividade antibacteriana e antidiabética (Funck *et al*, 2006).

Existem diversos tipos de ácidos graxos, mas relacionado a tratamento de feridas, o ácido linoléico e o ácido linolênico são os mais importantes, pois não podem ser sintetizados pelos mamíferos, por não possuírem a enzima delta 9-dessaturase, sendo assim chamados de ácidos graxos essenciais (AGE) (Pereira, 2008).

O ácido linoleico exerce um importante papel quimiotático para macrófagos, sendo fundamental na expressão de componentes do sistema fibrinolítico para a regulação da produção de collagenases. Além disso, favorece o desbridamento autolítico no leito da ferida por contribuir com a produção de metaloproteínas na indução da granulação (Ferreira et al, 2012).

Já o ácido linolênico é o lipídio encontrado em maior quantidade na camada epidérmica, atuando no transporte de gorduras e favorecendo a manutenção da integridade da barreira de permeabilidade epidérmica e acelerando processos cicatriciais. Auxilia na manutenção do meio úmido da pele como uma barreira natural de impermeabilidade, o que favorece a quimiotaxia e angiogênese e aceleração do processo de granulação (Ferreira et al, 2012).

Ferreira e colaboradores (2012), em revisão de literatura, listaram nove apresentações comerciais como ácidos graxos essenciais. Entretanto, a maioria das apresentações comerciais utilizadas no tratamento de feridas disponibilizadas no Brasil, genericamente conhecidas por AGE, contém em sua formulação apenas um ou nenhum dos dois ácidos: linoléico ou linolênico, em combinação com outros produtos (Ferreira et al, 2012).

Embora o óleo de Rosa Mosqueta (*Rosa aff rubiginosa*) tenha sido bastante difundido na indústria cosmética como poderoso agente cicatricial, poucos trabalhos de metodologia científica foram produzidos para confirmar especificamente sua eficácia no tratamento de feridas, cujos resultados tem sido empiricamente comprovados. Entre as indicações dermatológicas do óleo, está o combate ao envelhecimento precoce (Thielemann, Orrego e Sandoval, 1993), clareamento de sardas e estrias, controle de alterações da pele causadas pela radioterapia, prevenção e tratamento de assaduras, redução de marcas e cicatrizes hiperocrômicas (Fuji, Ikeda e Saito, 2011), hipertróficas e retráteis causadas por queimaduras,

feridas, acnes, quelóides, sendo também empregado na terapêutica de úlceras por pressão e em feridas pós-operatórias (plantamed, 2006; Molezzi & Albedano, 2002).

Em razão da combinação singular de AGE, Chrubasik *et al* (2008) e Patel (2013), indicam a necessidade de estudos consistentes para avaliar o potencial do uso tópico da Rosa Mosqueta em lesões e doenças de pele. Esses dados mostram a necessidade de buscar e reunir estudos sobre o uso da Rosa Mosqueta no tratamento de feridas, de forma a avaliar as evidências disponíveis na literatura científica.

3. JUSTIFICATIVA

O interesse pelas propriedades cicatrizantes do óleo de Rosa Mosqueta é justificado pelo impacto que a ocorrência crônica de lesões na pele gera em seus portadores. As feridas crônicas são caracterizadas por atraso na cicatrização apesar do emprego de tratamento. Sua prevalência gira em torno de 15% da população, implicando em consequências emocionais, físicas, sociais e econômicas (Brolmann et al, 2012). Por esse motivo, divulgação e desenvolvimento de tecnologias para o tratamento de feridas se fazem necessárias, preferentemente mais baratas e acessíveis, como por exemplo, com uso de produtos naturais (Klein et al, 2009).

Desde os primórdios, o homem tenta interferir no processo de cicatrização a fim de reduzir o tempo de resolução da lesão e proporcionar melhores resultados estéticos (Branco Neto et al, 2006). Alterações nas fases de cicatrização, seja por fatores externos quanto internos, acarretam em prolongamento da reparação tecidual e cicatrização anormal. O desenvolvimento de técnicas e produtos capazes de modular as fases da reparação tecidual sempre foi o alvo de estudos relacionados à cicatrização.

A decisão sobre o que usar no tratamento de uma ferida, aguda ou crônica, considera diversos fatores como a fisiopatologia da lesão, o conforto do paciente e sua facilidade de utilização, as características da secreção, a existência de infecção, a profundidade da área afetada, as propriedades do curativo propriamente dito, como também as questões sociais e econômicas do paciente (Smaniotto, 2012).

Atualmente, um extenso arsenal terapêutico para cicatrização de feridas está disponível no mercado e podem ser classificados segundo sua forma de ação (Fan et al, 2011): a) curativos passivos: promovem a proteção e garantem o meio úmido no leito da lesão; b) curativos com princípios ativos: atuam localmente promovendo desbridamento químico, e favorecem a proliferação celular; c) Curativos inteligentes: interagem diretamente com o leito da ferida, alterando o microambiente e induzem estímulos a sinalizadores endógenos; d) curativos biológicos: possuem compostos biológicos heterógenos ou alógenos que mimetizam a ação bioquímica de células teciduais (Smaniotto et al, 2010). A maioria desses produtos atua principalmente na fase inflamatória, modulando a resposta imune e otimizando a limpeza da lesão, ou na fase proliferativa, favorecendo a proliferação e migração celular e a deposição e organização do colágeno.

O uso de curativos proporciona a proteção física da lesão, a retenção de calor, a manutenção da umidade, a regeneração celular e a otimização da ação das enzimas e de

fatores de crescimento responsáveis pela proliferação e diferenciação celular no leito da ferida. O curativo também previne contaminação e pode promover o desbridamento autolítico. Além disso, possibilita o preenchimento de espaço morto e controle da secreção por absorção, evaporação ou oclusão (Irion, 2012).

Uma das preocupações no tratamento de feridas está em reduzir o número de trocas a fim de interferir o mínimo possível no processo fisiológico e garantir a concentração de fatores de crescimento no leito da lesão. Além disso, o número de trocas influencia nos gastos com materiais, exige mão-de-obra especializada e eleva os riscos de contaminação.

O óleo de Rosa Mosqueta (*Rosa aff rubiginosa*) tem sido estudado como agente cicatrizante tópico com positivos resultados *in vivo* (Eurides, 2011; Marchini, 1994), especialmente por suas propriedades anti-inflamatórias (Latanzzio, 2011). Entretanto, o uso do óleo puro ou como solução oleosa é extremamente desconfortável ao paciente, pois apresenta odor e textura desagradável, além de exigir trocas diárias que tornam o tratamento mais oneroso. O desenvolvimento de uma formulação semissólida que permita a manutenção do produto em contato direto com o leito da ferida poderia suplantar essas desvantagens.

Em adição, para garantir a eficácia no tratamento, o produto semissólido deve apresentar características sensoriais adequadas, boa espalhabilidade e estabilidade no leito da ferida, promover a troca de gases e líquidos entre ambientes interno e externo, além de possibilitar a facilidade de remoção durante a higienização minimizando traumas mecânicos no tecido neoformado. Entre as formas farmacêuticas semissólidas disponíveis, as emulsões óleo-em-água, também chamados de cremes O/A, atendem aos critérios mencionados, especialmente quanto ao mascaramento do odor e maior facilidade de remoção da pele por lavagem quando em comparação aos cremes A /O (Thompson, 2009).

Ensaios pré-clínicos com a Rosa Mosqueta, tanto no uso tópico quanto oral, tem demonstrado sua segurança e indicam eficácia enquanto agente anti-inflamatório e cicatrizante. Embora estudos clínicos relacionados à ação cicatrizante sejam encontrados na literatura, a amostra de indivíduos tratados é reduzida e a metodologia pouco clara, o que reduz a validade externa dos estudos, não sendo possível uma recomendação segura. No entanto, o óleo de Rosa Mosqueta tem sido utilizado empiricamente em lesões de pele sendo facilmente encontrado em farmácias de manipulação no Brasil. Neste trabalho, buscamos evidências na literatura científica que forneçam subsídios para o uso do óleo de Rosa Mosqueta no processo de cicatrização. A partir daí, propomos o desenvolvimento de uma emulsão utilizando óleo de Rosa Mosqueta que foi submetida, juntamente com o óleo puro, à

avaliação de eficácia no processo de cicatrização por meio de estudo morfológico e morfométrico da cicatrização de lesões confeccionadas em ratos Wistar adultos.

4. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Avaliar a eficácia do óleo de Rosa Mosqueta na reparação tecidual e sua influência nas fases de cicatrização por meio de estudo morfométrico e morfológico de lesões confeccionadas em ratos. Como inovação, este trabalho pretende comparar a eficácia do óleo puro com uma emulsão óleo em água elaborada com 30% desse óleo. Por sua vez, a eficiência de ambos os produtos serão avaliados comparando-se os resultados com outro produto já amplamente utilizado na prática clínica para tratamento de feridas.

Objetivos específicos

- Identificar, na literatura científica, níveis de evidência sobre o uso do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas;
- Desenvolver uma formulação óleo/água elegante e estável, contendo óleo de Rosa Mosqueta e avaliar a estabilidade dessa formulação a partir de características físico-químicas, químicas e microbiológicas;
- Verificar e comparar a eficácia do óleo de Rosa Mosqueta e da emulsão contendo 30% desse óleo no processo de cicatrização de ratos Wistar adultos por meio de avaliação morfológica e morfométrica.

5. DESENVOLVIMENTO

5.1 A ROSA MOSQUETA COMO POTENCIAL AGENTE CICATRIZANTE: REVISÃO INTEGRATIVA

Método

Foi realizada revisão integrativa sobre o uso do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas empregando-se as seguintes etapas: elaboração da hipótese e definição dos objetivos da pesquisa; busca na literatura para definição dos descritores bem como delimitação dos critérios de inclusão e exclusão; coleta dos dados; análise crítica dos estudos incluídos; discussão dos resultados e finalmente a apresentação da revisão (Souza et al, 2010).

Como pergunta norteadora desta revisão foi levantada a seguinte questão: que evidências existem na literatura científica que comprovem a eficácia do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas? Foram incluídos artigos publicados nas línguas inglesa, espanhola e portuguesa que apresentassem como tema de estudo unicamente a aplicação tópica do óleo de Rosa Mosqueta no processo de cicatrização cutânea.

A busca foi realizada entre julho e setembro de 2015 nas bases de dados eletrônicas *Literatura Latino-Americana de Ciências da Saúde* (Lilacs), *Biblioteca Virtual em Saúde* (BVS), *Medical Literature Analysis and Retrieval System on Line* (Medline), Biblioteca Cochrane, Scientific Electronic Library Online (Scielo), National Library of Medicine (PubMed) e Proquest, por meio dos descritores “Rosa Mosqueta”, “wound”, “*Rosa aff rubiginosa*”, “healing” ou “Rosa canina”. Não foi estabelecido recorte de tempo para esta revisão. Publicações repetidas em diferentes bases foram contabilizadas apenas uma vez, e aquelas não indexadas nas bases de dados digitais, porém consideradas importantes para essa pesquisa foram resgatadas por meio do Programa de Comutação Bibliográfica – COMUT.

As publicações listadas nas bases de dados com os descritores acima foram pré-selecionadas a partir dos títulos e submetidos à avaliação de seus resumos quanto aos objetivos e resultados. A leitura completa da publicação foi realizada apenas para os trabalhos que apresentaram informações incoerentes.

Para coleta de dados dos artigos incluídos nessa revisão foi utilizado instrumento validado por Ursi *et al* (2006) cujos itens contemplam a identificação do artigo original, características metodológicas do estudo, avaliação do rigor metodológico, das intervenções

mensuradas e dos resultados encontrados (Ursi et al, 2006). Os níveis de evidência dos trabalhos foram avaliados segundo a classificação do Oxford Centre for Evidence-Based Medicine (OCEBM, 2011) e a qualidade metodológica dos ensaios clínicos foi avaliada utilizando-se a escala de Jadad (Jadad, 1996). Os dados coletados foram então analisados e a síntese dos trabalhos foi feita por meio de quadro sinóptico.

Resultados e Discussão

A busca eletrônica, ilustrada na Tabela 1, permitiu o agrupamento de 43 publicações.

Tabela 1 Relação de descritores e número total de trabalhos resgatados por base de dados pesquisada. Brasília, 2015

Base de Dados	Descritores	Número de publicações encontradas	Número de publicações selecionadas
<i>Lilacs</i>	<i>“Rosa Mosqueta”</i>	<i>07</i>	<i>03</i>
<i>BVS</i>	<i>“Rosa aff rubiginosa” OR “Rosa Mosqueta” AND “Wound healing”</i>	<i>11</i>	<i>08</i>
<i>Medline</i>	<i>“Rosa aff rubiginosa”</i>	<i>01</i>	<i>01</i>
<i>Pubmed</i>	<i>“Rosa aff rubiginosa” or “Rosa Mosqueta” and “wound healing”</i>	<i>02</i>	<i>02</i>
<i>Scielo</i>	<i>“Rosa Mosqueta”</i>	<i>06</i>	<i>01</i>
<i>DOAJ</i>	<i>“Rosa Mosqueta” or “Rosa aff rubiginosa”</i>	<i>06</i>	<i>02</i>
<i>Cochrane</i>	<i>Rosa Mosqueta</i>	<i>01</i>	<i>0</i>
<i>Proquest</i>	<i>“Rosa aff rubiginosa” OR “Rosa canina” AND “wound”</i>	<i>20</i>	<i>0</i>
<i>Repetições (-)</i>		<i>11</i>	<i>11</i>
<i>Total</i>		<i>43</i>	<i>6</i>

A pré-seleção excluiu 37 trabalhos disponibilizados por meio eletrônico, restando apenas 6 que contemplaram os critérios de inclusão. Uma publicação foi posteriormente

adicionada à amostra, solicitada por meio do COMUT, por não estar disponível nas bases de dados on-line. A figura 6 ilustra o processo de seleção e inclusão dos trabalhos selecionados.

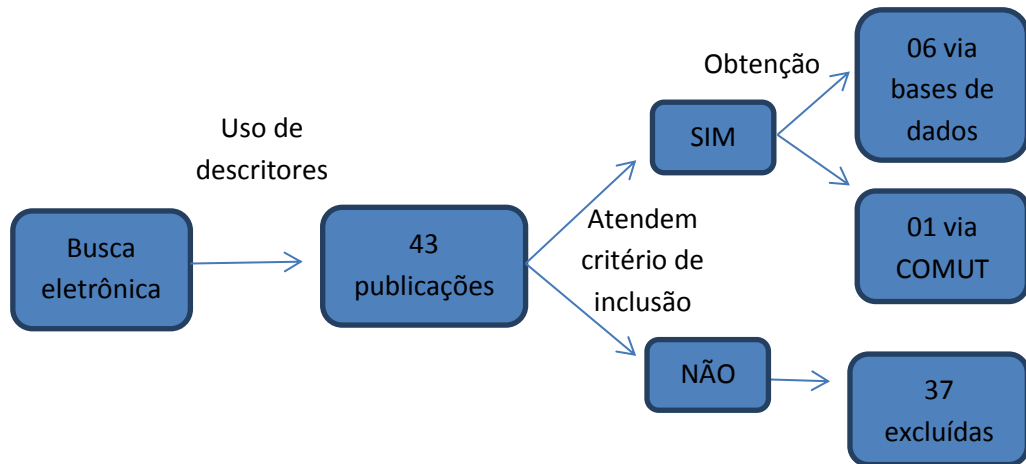


Figura 6 Esquematização para obtenção das publicações presentes na revisão integrativa. Brasília, 2015.

A Biblioteca Virtual em Saúde foi a base de dados mais sensível aos descritores utilizados, apresentando o maior número de publicações selecionadas (Tabela 1). A amostra foi constituída por cinco artigos (71,4%), uma dissertação (14,3%) e uma carta enviada à redação (14,3%). A origem das publicações foi predominantemente brasileira (N=5; 71,4%), seguida pela espanhola (N= 2; 28,6%). Quando avaliado o idioma de publicação, entretanto, essa diferença torna-se menor, já que quatro trabalhos foram publicados em Português (57,15%) e três publicados em Espanhol (42,85%). Todos os trabalhos analisados estavam ligados à área de pesquisa de Universidades brasileiras ou espanholas, apenas dois artigos foram desenvolvidos em unidades hospitalares e um artigo apresentou a participação de mais de uma instituição.

Em relação à área de formação dos pesquisadores, quatro dos artigos analisados foram publicados por médicos (57,1%), um não especificava a área de formação (14,3%) e outros dois foram publicados por enfermeiros (14,3%) e médicos veterinários (14,3%) cada. Em relação ao tipo de periódico, dois trabalhos foram publicados em revistas médicas (28,6%), um trabalho em revista de enfermagem geral (14,3%) e outro em revista de medicina veterinária (14,3%). Um dos trabalhos não foi publicado em revista e outros dois foram publicados em revistas de outras áreas da saúde (28,6%).

Quanto ao tipo de delineamento dos estudos avaliados evidenciou-se uma revisão de literatura, três estudos experimentais não clínicos, um estudo clínico de delineamento não-

experimental, um estudo com delineamento quase-experimental e outro com delineamento experimental, porém de baixa qualidade metodológica. A qualidade metodológica dos estudos clínicos foi avaliada como baixa segundo a escala de Jadad. A tabela 2 apresenta a síntese dos trabalhos incluídos nesta revisão e a tabela 3, mostra a avaliação dos estudos segundo nível de evidência e qualidade metodológica para estudos clínicos.

Tabela 2 Trabalhos consultados na revisão integrativa sobre óleo de Rosa mosqueta. Brasília, 2015.

AUTORES	ANO	TIPO DE ESTUDO	OBSERVAÇÕES
MARCHINI F.B <i>et al.</i>	1988	Estudo não clínico	O óleo possibilitou cicatrização eficiente das feridas em ratos wistar, com tecido de granulação mais organizado e maior deposição de colágeno que o grupo controle.
GIMENEZ J.C.M <i>et al.</i>	1990	Quase experimental placebo controlado com amostra pareada.	Úlceras varicosas ou feridas pós-operatórias de indivíduos tratados com óleo apresentaram menor tempo de cicatrização, menores taxas de recidiva e não apresentaram efeitos colaterais.
MARCHINI, F.B.	1994	Estudo não clínico	Ratos Wistar machos tratados com óleo apresentaram tecido de granulação com desenvolvimento e organização mais acelerados, remodelação de colágeno mais acentuada e maior número de fibroblastos em comparação ao grupo controle.
CAÑELLAS, M. <i>et al.</i>	2008	Estudo experimental	O estudo indica que o uso do óleo refinado em humanos com ferimento pós-cirúrgico podológico deve ser realizado após 48h para evitar a ocorrência de maceração da cicatriz. Este tipo de óleo proporciona reconstituição tecidual com cicatriz mínima. Enquanto que o óleo bruto não apresenta estabilidade.
SANTOS, JS, et al.	2009	Estudo de Revisão	Os trabalhos presentes na revisão enfatizam a associação de ácidos graxos essenciais (linoléico, linolênico e oléico) como possíveis responsáveis do efeito terapêutico do óleo de rosa mosqueta em feridas abertas.
MADJAROF, C. & LINARELLI,	2011	Estudo não-	Indivíduos com cicatriz hipertrófica apresentaram melhora da textura, elasticidade

M.C.B.	experimental	e aparência geral da cicatriz após 28 dias de uso.
EURIDES, D <i>et al.</i> 2011	Estudo não clínico controlado	O grupo de ratos tratados com óleo apresentou redução do edema, menor área de lesão, maior deposição de colágeno e completa epitelização no 13º dia pós operatório em relação ao grupo controle.

Tabela 3 Avaliação dos trabalhos consultados por nível de evidência e qualidade metodológica para estudos clínicos. Brasília, 2015.

Artigos	Nível de Evidência	Índice de Jadad
MARCHINI FB <i>et al.</i> 1988	5	NA
GIMENEZ JCM <i>et al.</i> 1990	4	0
MARCHINI FB. 1994	5	NA
CAÑELLAS M <i>et al.</i> 2008	2	2
SANTOS JS <i>et al.</i> 2009	5	NA
MADJAROF C & LINARELLI MCB. 2011	3	0
EURIDES D <i>et al.</i> 2011	5	NA

A eficácia do óleo de Rosa Mosqueta no processo de cicatrização vem sendo estudada nas últimas três décadas, com destaque para a produção brasileira. Apesar disso, poucos estudos sobre o tema foram publicados (Marchini, 1994; Winther, 2013; Santos, 2009; Marchini *et al.*, 1988; Gimenez, 1990; Canellas, 2008; Eurides, 2011; Madjarof, 2011).

O interesse pelo óleo de Rosa mosqueta surgiu em 1988, com o primeiro estudo experimental não clínico realizado por Marchini, que a partir de então, seguiu nesta mesma linha para avaliar a eficácia deste insumo no processo de cicatrização de feridas em ratos Wistar (Marchini, 1994; Marchini *et al.*, 1988)

A avaliação histológica das lesões tratadas com o óleo mostrou um tecido cicatricial com maior deposição de colágeno, menor número de macrófagos e maior quantidade de fibroblastos aos 7, 14 e 21 dias de regeneração. Além disso, observou também que as lesões apresentavam tecido de cicatrização mais avançado com tecido de granulação mais organizado que o grupo controle (Marchini, 1994).

Eurides *et al* (2011) obteve resultados semelhantes ao observar que as lesões tratadas com óleo de Rosa Mosqueta apresentaram redução do edema, menor área de lesão a partir do sétimo dia pós-operatório (DPO), maior deposição de colágeno e completa epitelização no 13º dia quando comparado ao grupo controle tratado com solução de soro fisiológico a 0,9% (Eurides, 2011).

Apesar de não oferecerem níveis de evidência suficientes para uma recomendação clínica, os estudos em animais permitem investigar eficácia e segurança de um produto novo antes de ser testado em humanos. Nos estudos dessa natureza levantados nesta revisão, o achado mais importante foi a redução de infiltrado inflamatório e boa organização de colágeno das lesões tratadas com óleo de Rosa Mosqueta quando comparado ao grupo controle. Apesar dos resultados satisfatórios desses estudos, a comparação do grupo experimento se deu apenas com o tratamento placebo com soro fisiológico, sendo interessante a inclusão de um controle positivo para avaliação da eficácia do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas.

A capacidade anti-inflamatória do óleo de Rosa Mosqueta pode ser de interesse clínico no tratamento de feridas, especialmente naquelas de difícil tratamento. A cicatrização envolve uma sequência de eventos complexos e sobrepostos que devem se equilibrar para um adequado reparo tecidual. Após o dano celular, o primeiro evento a ser desencadeado é a hemostasia por meio da cascata de coagulação. Nesse processo, o fibrinogênio é convertido em fibrina, que, ao ser polimerizada, forma uma capa que recobre a lesão e que servirá de matriz provisória para a invasão de vários tipos celulares (Irion, 2012). Cerca de 24h – 48h depois, células inflamatórias começam a infiltrar na ferida, degradando a camada de fibrina que será substituída por colágeno (Irion, 2012). Esse processo inflamatório permite a limpeza do tecido lesionado para substituição de tecido novo. Entretanto, se a inflamação local se mantém além do esperado, o período de fechamento da lesão é prolongado, favorecendo a ocorrência de infecções, exsudatos, necroses e a formação de um tecido de má qualidade.

Em revisão de literatura, Santos *et al* (2009), reuniram informações sobre a composição bioquímica do óleo de forma a levantar evidências sobre seu uso na cicatrização de feridas. As informações reunidas indicam que a Rosa Mosqueta tem propriedades cicatrizantes pela combinação de ácido oléico, linoléico e linolênico (Ferreira, 2012). Tais compostos, conhecidos como ácidos graxos são importantes componentes estruturais das membranas biológicas, além de atuarem como precursores de mensageiros intracelulares, pois quando oxidados, geram adenosina trifosfato (ATP) (Ferreira, 2012). Ressalta-se também a

presença de fenóis e carotenóides encontrados no óleo de Rosa Mosqueta, cujas propriedades antioxidativas podem favorecer a regeneração tecidual (Cunja, 2015).

Foram encontrados três estudos clínicos com o óleo de Rosa Mosqueta no tratamento de feridas ou relacionado ao modelamento cicatricial. O primeiro deles, relatado por Gimenez *et al* (1990), foi um estudo experimental que avaliou o efeito do óleo a 26% na cicatrização de feridas de etiologia variada. Os pesquisadores incluíram 10 pacientes portadores de úlceras venosas ou pós-cirúrgicas de difícil cicatrização e avaliaram o tempo de cura e a recidiva de lesões comparados com grupo controle de amostra pareada. Foram avaliados pacientes com úlceras varicosas, úlceras postraumáticas, eczemas de contato e deiscências pós-cirúrgicas. Os autores verificaram que o grupo tratado com o óleo apresentou processo de cicatrização mais avançado, com tecido de granulação mais organizado e maior deposição de colágeno que o grupo controle. Observou-se uma diferença de até 29 dias no tempo de cicatrização entre o grupo tratado e o grupo controle (23,25 dias para o grupo terapêutico contra 52,2 dias para o grupo controle).

Apesar do bom resultado descrito, alguns vieses devem ser destacados: a amostra de apenas 10 pacientes restringe os achados do estudo. Além disso, não fica claro a forma de aleatorização da amostra e o tipo de produto utilizado para o grupo controle. Há que se destacar também que a inclusão de diferentes tipos de feridas dificulta a comparação dos resultados. O estudo não confere clareza metodológica, os dados são pouco objetivos e o tratamento estatístico se restringiu à descrição das proporções, não permitindo confirmar se as diferenças encontradas são estatisticamente significativas.

Um estudo clínico experimental, realizado por Cañellas *et al* (2008), testou o óleo de Rosa Mosqueta bruto e refinado em ferida operatória de cirurgias podológicas em 50 pacientes, comparando-as com grupo controle por 12 dias. Eles não encontraram diferenças no tempo de cicatrização, porém concluíram que o óleo refinado melhora o processo de cicatrização, produzindo uma cicatriz mínima. O óleo bruto não deve ser utilizado por não apresentar estabilidade com o tempo. Destacaram também que o uso do óleo em feridas pós-cirúrgicas, cicatrizando por primeira intenção, deve ser utilizado 48h após o procedimento para evitar o excesso de maceração do tecido. O estudo, entretanto, não esclarece como foi realizada a randomização da amostra nem especifica o tipo de produto utilizado no grupo controle. Quanto ao tratamento dos dados, foi aplicado apenas estatística descritiva, o que não permite afirmar se as diferenças encontradas são significantes.

Estudo proposto por Madjarof e Linarelli (2011), investigou o efeito de um produto comercial (Rinopel®) em 23 pacientes de 18 a 60 anos com cicatriz hipertrófica formada há

no máximo quatro meses. Foi avaliada textura, elasticidade e aparência geral da cicatriz tanto pelos pacientes quanto pelos pesquisadores utilizando o Standard Guide for Sensory Claim Substantiation. Após 28 dias de uso do produto 87,0%, 82,6% e 95,7% dos voluntários/julgadores referiram melhora da textura, elasticidade e aparência geral da cicatriz, respectivamente. O estudo, porém, utiliza amostra de conveniência, não possui grupo controle e não padronizou dose e quantidade de aplicações. Ademais, o produto utilizado é uma combinação de óleo de Rosa Mosqueta, óleo de Centella Asiática e de vitamina E, não sendo possível afirmar se os efeitos observados são atribuídos à Rosa Mosqueta. A análise estatística é apenas descritiva e o estudo não fornece protocolo do Comitê de ética.

Com base nos dados levantados, é possível observar que nas últimas três décadas pouco se avançou na avaliação da eficácia da Rosa Mosqueta no processo de cicatrização. Os estudos clínicos levantados nesta pesquisa possuem vieses metodológicos que reduzem o nível de evidência e não são suficientes para uma recomendação. Entretanto, os resultados de estudos não clínicos mostram que o óleo de Rosa Mosqueta pode ter atividade imunomodulatória no leito da ferida e favorecer a deposição de colágeno e organização tecidual.

Em feridas pós-operatórias, um estudo sugere que o óleo deve ser utilizado após 48h do procedimento cirúrgico a fim de evitar maceração do tecido. Ressalta-se também que o óleo refinado apresentou melhores resultados que o óleo bruto. Outro estudo mostra evidências de que o óleo pode ter efeitos terapêuticos mesmo em uma concentração mais baixa, a 26%.

Os estudos encontrados nesta revisão não apresentaram nível de evidência suficiente para uma recomendação segura do óleo de Rosa Mosqueta no tratamento de feridas. Apesar disso, a composição bioquímica do óleo fornece subsídios para inferir que essa planta pode trazer benefícios no tratamento de lesões, especialmente as de difícil cicatrização, pela sua atividade imunomodulatória.

Em adição, a necessidade de elaboração de um produto farmacêutico à base do óleo de Rosa Mosqueta se faz de particular interesse para a prática clínica, pois permitirá maior estabilidade deste insumo, que permanecerá maior tempo em contato com o leito da ferida e provavelmente reduzirá o incômodo do paciente e custos do tratamento.

6. CONCLUSÃO

As evidências científicas disponíveis na literatura para o uso do óleo de Rosa Mosqueta como agente cicatrizante são inconclusivas. Os estudos disponíveis possuem vieses metodológicos que não permitem uma indicação segura. Contudo, diversos estudos mostram um potencial clínico para a Rosa Mosqueta por sua concentração de ácidos graxos, compostos fenólicos e atividades antioxidantes e antiinflamatória *in vitro* e *in vivo*.

Os dados obtidos nesse trabalho permitem concluir que os estudos disponíveis sobre o uso do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas possuem nível de evidência fraca e baixa qualidade metodológica. Estudos clínicos bem conduzidos se fazem necessários para uma indicação ou refutação do uso clínico da Rosa Mosqueta no tratamento de feridas.

A elaboração de uma emulsão O/A a base de óleo de Rosa Mosqueta para tratamento de feridas mostrou-se viável e mesmo desejável ao garantir maior atividade antioxidante que o óleo puro por até 60 dias em condições de altas temperatura e umidade, que mimetizam o microambiente de uma ferida.

A emulsão O/A desenvolvida nesse estudo apresentou aspecto, pH e espalhabilidade compatível para uso tópico. A estabilidade físico-química se manteve por 30 dias e a capacidade antioxidativa foi superior ao óleo puro, indicando que o uso de uma formulação no tratamento de lesões pode garantir proteção dos compostos biológicos contidos no óleo e aumentar sua eficácia. Além disso, o uso de fração menor de óleo torna a emulsão economicamente mais viável do que o óleo puro.

A solução oleosa de Rosa Mosqueta diluída até 30% mostrou equivalência com o óleo puro pela comparação da capacidade antioxidativa e a concentração de betacarotenos, sugerindo que os compostos bioativos não sofrem interferência durante a diluição.

A carga microbiana das emulsões e das soluções oleosas analisadas apresentou decréscimo ao longo do tempo, podendo indicar uma possível ação bacteriostática do óleo.

A avaliação de eficácia da emulsão O/A desenvolvida com 30% de óleo de Rosa Mosqueta, bem como das soluções oleosas, *in vivo*, mostraram melhores resultados na prevenção de tecido necrótico e fibrinoso no leito da lesão quando comparado aos controles negativos e positivo. Além disso, o creme de Rosa Mosqueta 30% aumentou o recrutamento de neutrófilos na fase inicial da cicatrização e modulou a resposta inflamatória na fase mais tardia. Esses dados mostram uma possível ação imunomodulatória no leito da lesão que pode ser de interesse clínico no tratamento de feridas, promovendo a liberação de fatores de crescimento e influxo celular para a ferida.

Como perspectivas futuras, novos estudo de estabilidade podem ser conduzidos para a emulsão desenvolvida neste estudo em condições diversas de umidade e temperatura. Além disso, pode-se buscar aprimorar a formulação a fim de estender o prazo de validade da emulsão por meio da adição de agentes antioxidativos.

A possibilidade de uma ação bacteriostática do óleo de Rosa Mosqueta é interessante para o tratamento de feridas a fim de reduzir a ocorrência de biofilme. Entretanto, estudos microbiológicos específicos são necessários para comprovar essa teoria.

A fim de comprovar a eficácia da emulsão O/A com óleo de Rosa Mosqueta no tratamento de feridas, estudos clínicos serão fundamentais para fornecer uma indicação clínica adequada para o uso do produto.

REFERÊNCIA

- ABREU, JAC. et al. Análise histológica da cicatrização de feridas cutâneas experimentais sob ação do laser de baixa potência. **Scientia Medica**, v. 21, n. 3, p. 96-100. Porto Alegre, 2011.
- ANDERSON, U. et al. Rose hip exerts antidiabetic effects via mechanism involving down regulation of the hepatic lipogenic program.. **American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism**, v. 300, , p. 111-121, 2011.
- BALBINO, CA ; PEREIRA, LM ; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 1, 2005.
- BELDON, P. Basic science of wound healing. **Surgery**, v. 28, n. 9, p. 409-12, 2010.
- BRANCO NETO, MLC. et al. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 21, n. 2, p. 1-17, 2006.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopéia Brasileira**. versão 5ª. Volume 1. Brasília, 2010.
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos**. Volume 1, Brasília, mai/2004..
- _____. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos**. versão 2ª. Brasília:Anvisa, 2008..
- _____. Resolução - RDC nº 14, de 31 de março de 2010. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 mar. 2010. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <<http://www.brasilsus.com.br/legislacoes/rdc/103507-14.html>> Acesso em: Acesso em 15 de Junho de 2015. .
- BROLMANN, FE. et al. Evidence-based decisions for local and systemic wound care. **British Journal of Surgery**, v. 99, p. 1172-1183, 2012.
- CAMPOS, ACL ; BORGES-BRANCO, A ; GROTH, AK. Cicatrização de feridas. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva**, v. 20, n. 1, p. 51-8, 2007.
- CAÑELLAS, M ; ESPADA, N ; OGALLA, JM. Estudio del aceite de rosa mosqueta en cicatrices postquirúrgicas. **El Peu**, v. 28, n. 1, p. 9-13, 2008.
- CARVALHO, ACB. et al. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, v. 11, ano V, jun/2007.
- CASTELO-BRANCO VN, TORRES AG. Capacidade antioxidante total de óleos vegetais comestíveis: determinantes químicos e sua relação com a qualidade dos óleos. **Revista de Nutrição**, v. 24, n. 1, 2011.

CHURBASIK, C. et al. A systematic review on the Rosa canina effect and efficacy profiles. **Phytotherapy Research**, v. 22, p. 725-33, 2008.

CHURBASIK, C ; DUKE, RK ; CHURBASIK, S. The evidence for clinical efficacy of Rose Hip and seed: a systematic review. **Phytoterapy**, v. 20, p. 1-3, 2006.

CUNJA, V. et al. Frost decreases content of sugars, ascorbic acid and some quercetin glycosides but stimulates selected carotenes in Rosa canina hips. **Journal of Plant Physiology**, v. 178, p. 55-63, 2015.

DAELS-RAKOTOARISON, DA. et al. Effects of Rosa canina fruit extract on neutrophil respiratory burst. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 2, p. 157-61, 2002.

DAMY, SB. et al. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, n. 1, p. 103-11, 2010.

DEALEY, C. **Cuidando de feridas: um guia para enfermeiras**. 3ª. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 3.

DIEGELMANN, RF. Cellular and biochemical aspects of normal and abnormal wound healing: an overview. **The Journal of Urology**, v. 157, p. 298-3, Jan/1997.

DOGAN, A ; KAZANKAYA, A. Fruit properties of Rose Hip species grown in Lake Van Basin (eastern Anatolia Region). **Asian Journal of Plants Science**, Turquia. v. 5, n. 1, p. 120-2, 2006.

DOWSET, C; et al. **Triangle of wound assessment made easy**. Wounds International. May/2015.

DRISCOLL, DF. et al. Physicalchemical stability assessments of lipids emulsions of varing oil composition. **Clinical Nutrition**, v. 20, n. 2, p. 151-7, 2001.

EBAH. **A pele e o processo de cicatrização**. Disponível em <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAAP7MAD/a-pele-processo-cicatrizacao>. Acesso em 06 de novembro de 2016.

EGGERS, R ; AMBROGI, A ; SCHNITZLER, J Von. Special features of scf solid extraction of natural products: deoiling of wheat gluten and extraction of rose hip oil. **Brazilian Journal of Chemical Engineerinf**, Technical University of Hamburg - Hamburg, Germany. v. 17, n. 3, p. 1-8, 2000.

EURIDES, D. et al. Efecto del extracto de rosa mosqueda (Rosa aff. rubiginosa) em la cicatrización de heridas cutáneas. **Revista Eletrônica de Veterinaria**, v. 12, n. 1, p. 1-10, 2011.

FALCÃO, SC. et al. Processo modificado de reprodução e amplificação de imagem para mensuração de área por planimetria. Aplicação em feridas planas produzidas em cães, tratadas por curativos oclusivos de pele de rã. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo. v. 38, n. 4, p. 165-9, 2001.

FAGUNDES DJ, TAHA MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 19, n.1, 2004.

FAN, K. et al. State of the art in topical wound-healing products. **Plastic and Reconstructive Surgery**, v. 127 (Suppl.), p. 44S-59S, 2011.

FERREIRA, AM. et al. Utilização dos ácidos graxos no tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura nacional. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, v. 46, n. 3, p. 752-60, 2012.

FRANGE, RC ; GARCIA, MTJ. Desenvolvimento de emulsões óleo de oliva/água: avaliação da estabilidade física. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 263-71, 2009. ISSN 1808-4532.

FROMM, M. et al. Identification and quantitation of carotenoids and tocopherols in seed sils recovered from different rosaceae species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 43, p. 10733-42, 2012.

FUJI, T ; IKEDA, K ; SAITO, M. Inibitory effect of Rose Hip (*Rosa canina* sp) on melanogenesis im mouse melanoma cells and on pigmentation in brown guinea pigs. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v. 75, n. 3, p. 489-95, 2011.

FUNCK, LG ; BARRERA-ARELLANO, D ; BLOCK, JM. Ácido linoléico conjugado (cla) e sua relação com a doença cardiovascular e os fatores de risco associados. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 56, n. 2, 2006.

GIL, ES ; MATIAS, R ; ORLANDO, RM. Métodos de identificação. In: GIL, ES; MATIAS, R; ORLANDO, RM. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. Única. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010. Cap. 09.

GIL, ES; et al. Estabilidade de fármacos e medicamentos. In: GIL, ES; MONTALVÃO, EV; BATISTA FILHO, ROP. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. Única. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010. Cap. 17.

GIMENEZ, JCM. et al. Tratamiento de las úlceras cutáneas con aceite de rosa de mosqueta. **Medicina Cutánea IberoLatinoAmericana**, v. 18, n. 1, p. 63-66, 1990.

GODOY, JMP ; PRADO, PA. Ácidos gordos essenciais enriquecidos com vitamina A, E e ácido linoleico como pensos em feridas crônicas. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**, v. 21, p. 193-5, 2005.

HAKANSSON, A. et al. Rose hip and *Lactobacillus plantarum* DSM 9843 reduce ischemia/reperfusion injury in the mouse colon. **Digestive Disease and Science**, v. 51, p. 1094-2101, 2006.

IRION, GL. **Feridas: novas abordagens, manejo clínico e atlas em cores**. 2ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. Cap. 2 e 12.

JADAD, AR. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary?. **Controlled Clinical Trials**, v. 17, n. 1, p. 1-12, Feb/1996.

KANASHIRO, A. et al. Inhibitory activity of flavonoids from *Lychnophora* sp. on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes. **Phytotherapy Research**, v. 18, n. 1, p. 61-5, 2004.

KAZANKAYA, A. et al. Pomological description of *Rosa canina* selections from Eastern Anatolia Turkey. **International Journal of Botany**, v. 1, n. 1, p. 100-2, 2005.

KHARAZMI, A ; WINTHER, K. Rose hip inhibits chemotaxis and chemiluminescence of human peripheral blood neutrophils in vitro and reduces certain inflammatory parameters in vivo. **Scandinavian Journal of Rheumatology**, v. 34, p. 302-8, 2005.

KLEIN, T. et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-8, 2009.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) Compositae - marcela**, 1991. 228 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1991.

LARSEN, E. et al. An anti-inflammatory galactolipid from rose hip (*Rosa canina*) that inhibits chemotaxis of human peripheral blood neutrophils in vitro. **American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy. Journal of Natural Products**, v. 66, n. 7, p. 994-5, 2003.

LAZARUS, GS. et al. Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. **Wound Repair And Regeneration**, v. 2, n. 3, p. 165-70, July-Sep/1994.

LATANZZIO, F et al. In vivo anti-inflammatory effect of *Rosa canina* L. extract. **Journal of Ethnopharmacology** ., v. 137, p. 880-5, 2011.

MACHMUDAH, S. et al. Process optimization and extraction rate analysis of carotenoids extraction from rosehip fruit using supercritical CO₂. **Journal Supercritical Fluids**, v. 44, n. 3, p. 308-14, 2008.

MADJAROF, C ; LINARELLI, MCB. Estudo da eficácia percebida na melhora da textura, elasticidade e aparência geral de cicatrizes hipertróficas, através da aplicação do produto cosmético Renopel®. **Revista Brasileira de Medicina**, v. 68, n. 5, Mai/2011. S0034-72642011007600005.

MARCHINI, FB. Estudo morfológico e morfométrico da cicatrização de feridas cutâneas abertas em ratos albinos com e sem tratamento com óleo de Rosa Mosqueta. **Universidade de São Paulo - Unifesp, Escola Paulista de Medicina, Departamento de Cirurgia Plástica**, São Paulo. 1994 . (Dissertação-Mestrado).

MARCHINI, Fb. et al. Efeito do óleo de Rosa Mosqueta na cicatrização de feridas abertas(letter). **Revista Paulista de Medicina**, v. 106, n. 6, p. 356, 1988.

MARQUES, RG. Técnica operatória e cirurgia experimental. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Cap. 01.

McDOUGALL, S. et al. Fibroblast migration and collagen deposition during dermal wound healing: mathematical modelling and clinical implications. **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, v. 364, p. 1385-405, 2006.

MENDONÇA, RJ ; COUTINHO-NETO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 84, n. 3, p. 257-62, 2009.

MOLEZZI, A ; ALBEDAÑO, A. Fitomedicina: usos más comunes en Dermatología. **Dermatología Argentina**, Buenos Aires, Argentina. v. VIII, n. 3, 2002.

MOLICA, EM. Caracterização *in vitro* de compostos bioativos em cucurbitáceas e sua aplicação no desenvolvimento de produto para nutrição cutânea. Programa de Pós-Graduação em Nutrição Humana, Departamento de Nutrição, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, 2015. (Tese)

MORAIS, GG. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de emulsões O/A com cristais líquidos acrescidas de xantina para tratamento da hidrolipodistrofia ginóide (celulite). **Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo - USP**, Ribeirão Preto. 2006. (Dissert.).

NEVES, SMP. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP / Silvânia M. P. Neves [et al.]. -- São Paulo : FCF-IQ/USP, 2013. 216 p.

NovidermPortugal. **A estrutura da pele: a epiderme**. Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=jwJ-A4HcnKM>> Acesso em: 03 jul. 2016.

OLIVEIRA, BRGB ; CASTRO, JBA ; ANDRADE, NC. Técnicas utilizadas na aferição de feridas e avaliação do processo cicatricial. **Saúde Coletiva**, v. 2, n. 6, p. 57-62, 2005.

ORHAN, DD ; HARTEVIOGLU, A. The chemical composition and biological activity of Rose Hip. **Spatula DD**, v. 3, n. 1, p. 23-30, 2013.

OXFORD CENTRE FOR EVIDENCE-BASED MEDICINE.. OCEBM. **The Oxford 2011 Levels of Evidence**. Levels of Evidence Working Group*. Disponível em: <<http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>> Acesso em: 15 fev. 2016.

PAREJA, B. Plantas medicinales con aplicaciones en dermatología y cosmética. **Dermofarmácia: Folia Dermatológica Peruana**, v. 7, n. 3/4, dec/1996. Disp. em: sisbib.unmsm.edu.pe/.../images/pag49b_fig1.jpg.

PATEL, S. Rose hip as complementary and alternative medicine: overview of the present status and prospects. **Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 6, n. 2, p. 89-97, Aug/2013.

PEREIRA, LM *et al.* Effect of oleic and linoleic acids on the inflammatory phase of wound healing in rats. **Cell Biochemistry and Function**, 2008; 26: 197-204.

PLANTAMED. **Rosa Canina L.**. Disponível em:

<http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Rosa_canina.htm> Acesso em: 13 dez. 2015.

PLANTAS Ervas. Disponível em:

<<http://www.plantaservas.hpg.ig.com.br/arquivos/ervas/rosa-mosqueta.htm>> Acesso em: 13 fev. 2015.

PRIOR, RL ; WU, X ; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 53, p. 4290-302, 2005. doi: 10.1021/jf05 02698.

RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9/10, p. 1231-7, May/1999.

REIS, CLD. et al. Mensuração de área de úlceras por pressão por meio dos softwares Motic e AutoCAD®. **Revista Brasileira de Enfermagem**, Brasília. v. 65, n. 2, p. 304-8, mar-abr/2012 .

RODRIGUES, LM; et al. Oral administration of oleic or linoleic acid accelerates the inflammatory phase of wound healing. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 132, p. 208-215, 2012.

RODRIGUES, LM. Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminar de emulsões óleo/água (o/a) a base de óleos vegetais para prevenção e/ou adjuvante no tratamento de úlceras por pressão. **Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Departamento de Farmácia**, Brasília. 2013. (Monografia).

ROMAN, I ; STANILA, A ; STANILA, S. Bioactive compounds and antioxidant activity of Rosa canina L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. **Chemistry Central Journal**, v. 7, n. 73, 2013.

ROUBELAKIS, MG. et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes fetal mesenchymal stem/stromal cell migration and wound healing process. **Stem Cell Review and Reports**, v. 10, p. 417-28, 2014.

SÁ, H P. et al. Estudo comparativo da ação do laser GaAlInP e do gerador de alta frequência no tratamento de feridas cutâneas em ratos: estudo experimental. **ConScientiae Saúde**, v. 9, n. 3, p. 360-6, 2010.

SAABY, L. et al. Isolation of immunomodulatory triterpene acids from a standardized Rose Hip Powder (Rosa canina L.). **Phytoterapy**, v. 25, p. 195-201, 2011.

SAAR SRC, LIMA VLAN. Avaliação da pessoa portadora de ferida. In: BORGES EL, SAAR SRC, MAGALHÃES MBB, GOMES FSL, LIMA VLAN. Feridas: como tratar. 2ª Edição. Belo Horizonte: **Coopmed**, 2010. Cap. 5.

SALMINEN, JP. et al. Characterization of proanthocyanidin aglycones and glycosides from Rose hips by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry, and their rapid

quantification together with vitamin C. **Journal of Chromatography**, v. 1077, p. 170-80, 2005.

SANTOS, JS ; VIEIRA, ABD ; KAMADA, I. A Rosa Mosqueta no tratamento de feridas abertas: uma revisão. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 62, n. 3, p. 457-62, jun/2009. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-71672009000300020&lng=en..

SAVIAN, AL. et al. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 91, n. 2, p. 82-8, 2011.

SCHANAIDER, A.; SILVA, PC. Uso de animais em cirurgia experimental. **Acta Cirúrgica Brasileira**. [serial online]; v. 19, n. 4, Jul-Ag/2004.

SMANIOTTO, PHS. et al. Tratamento clínico das feridas: curativos. *Revista de Medicina*, São Paulo, v. 89, n. 3/4, p. 137-41, jul-dez/2010.

SMANIOTTO, PHS. et al. Sistematização de curativos para o tratamento clínico de feridas. **Revista Brasileira de Cirurgia Plástica**, v. 27, n. 4, p. 623-6, 2012.

SOUZA, MT ; SILVA, MD ; CARVALHO, R. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein**, v. 8, n. 1, p. 102-6, 2010.

SZENTMIHÁLYI, K. et al. Rose hip (*Rosa canina* L.) oil obtained from waste hip seeds by different extraction methods. **Bioresource Technology**, v. 82, n. 2, p. 195-201, 2002.

THIELEMANN, AM. et al. Determinación de la eficacia de una crema com aceite de Rosa Mosqueta en la atenuación de arrugas. **Na. Real Acad. Farm.**, v. 59, n. 2, p. 211-18, 1993.

THOMPSON, JE. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. Porto Alegre: Artmed, 2006. Cap. 22, 30 e 34.

TUMBAS, VT. et al. Characterization of the free radical scavenging activity of Rose Hip (*Rosa canina* L.) extract. **International Journal of Food Properties**, v. 15, p. 188-201, 2012.

TUMBAS, VT. et al. Effect of rosehip (*Rosa canina* L) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 92:1273-1281, 2012.

TURK, HF *et al.* Inhibitory effects of ômega-3 fatty acids on injury –induced epidermal growth factor receptor transactivation contribute to delayed wound healing. **Am J Physiology Cell Physiology** 304: 905-17, 2013.

URSI, ES ; GALVÃO, CM. Prevenção de lesões de pele no perioperatório: revisão integrativa da literatura. **Revista Latino-americana de Enfermagem**, v. 14, n. 1, p. 124-31, Jan-fev/2006.

VADAS, EB. Estabilidade de produtos farmacêuticos. In: GENNARO, AR. **A ciência e a prática da farmácia**. 20ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. Cap. 52.

VALDEBENITO, G. et al. Innovación tecnológica y comercial de productos forestales no madereros (PFNM) en Chile. **Proyecto Fondef - Infor - Fundacion Chile. Proyecto FONDEF D00I104**, Chile. jul/2003..

VALLADARES, J. et al. Crema de aceite de mosqueta (rosa aff. Rubiginosa l.). I. Parte: formulación, preparación y aplicación primaria en regeneración de tejidos. **Anales da Real Academia de Farmacia**, v. 52, n. 3, p. 597-612., 1986.

VELASCO,. et al. Desenvolvimento e Teste Preliminar da Estabilidade de formulações cosméticas acrescidas de extrato comercial de *Trichilia catigua* Adr. Juss (e) *Ptychopetalum olacoides* Benthann. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 181-96, 2008.

WARHOLM, O. et al. The effects of a standardized herbal remedy made from a subtype of *Rosa canina* in patients with osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. **Current Therapeutic Research Clinical and Experimental**, v. 64, n. 1, p. 21-31, 2003.

WENZIG, EM. et al. Phytochemical composition an in vitro pharmacological activity of two rose hip (*Rosa canina* L.) preparations. **Phytomedicine**, v. 15, p. 826-35, 2008.

WILLIAMSON, D ; HARDING, K. Wound healing. **Medicine**, v. 32, n. 12, p. 4-7, 2004.

WILLICH, SN. et al. Rose hip herbal remedy in patients with rheumatoid arthritis - a randomised controlled trial. **Phytomedicine**, v. 17, p. 87-93, 2010.

WINTHER, K ; CAMPBELL-TOFTE, J ; HANSEN, P. Rose hip powder that contains the natural amount of shells and seeds alleviates pain in osteoarthritis of the dominant hand - a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over clinical trial. **Open Journal of Rheumatology and Autoimmune Diseases**, v. 3, p. 172-80, 2013.

YOON, HS ; KIM, YK ; CHUNG, JH. High-concentration all-trans retinoic acid induces dermal inflammation and reduces the accumulation of type I procollagen in human skin in vivo. **British Association of Dermatologists**, v. 165, p. 669-72, 2011.

YOUNG, A ; MCNAUGHT, C. The physiology of wound healing. **Surgery**, v. 29, n. 10, p. 475-9, 2011.